

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**  
**Departamento de Medicina y Cirugía Animal**



**TESIS DOCTORAL**

**Herramientas innovadoras en el diagnóstico del síndrome respiratorio  
bovino (SRB)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**Natividad Pérez Villalobos**

Directores

**Juan Vicente González Martín**  
**Susana Astiz Blanco**  
**Antonio González de Bulnes**

**Madrid, 2016**

# **HERRAMIENTAS INNOVADORAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO**



**TESIS DOCTORAL**  
**Madrid, octubre de 2015**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
**Departamento de Medicina y Cirugía Animal**

**Directores: Dr. Juan Vicente González Martín,**  
**Dra. Susana Astiz Blanco y Dr. Antonio González de Bulnes**  
**Memoria presentada por Natividad Pérez Villalobos**



# **HERRAMIENTAS INNOVADORAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO**

**VºBº Los directores**

**Dr. Juan Vicente González Martín**

**Dra. Susana Astiz Blanco**

**Dr. Antonio González de Bulnes**

**Memoria presentada por Natividad Pérez Villalobos**

**para el acceso al grado de Doctor**





**Madrid, octubre de 2015**



**D. Juan Vicente González Martín, profesor titular del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad Complutense de Madrid, Dña. Susana Astiz Blanco Doctora en veterinaria por la Universidad de Hannover, Alemania y D. Antonio González de Bulnes Doctor en veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid.**

**INFORMAN:**

**Que el presente trabajo de investigación titulado “HERRAMIENTAS INNOVADORAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO” presentado por Dña. Natividad Pérez Villalobos, y dirigida por quienes suscriben, reúne los requisitos necesarios para su exposición y defensa, con el fin de optar al grado de Doctor en Veterinaria.**

**Y para que así conste, firmamos el presente informe en  
Madrid, octubre de 2015**



***A lñaki: mi vida, mi amigo, mi compinche, mi mejor regalo...***



## Agradecimientos

Quiero agradecer a cada ternero que me ha sufrido, a cada ganadero que ha confiado, a cada empresa que ha participado (Trialvet, Hipra, Merial, Micros, Neiker, VES), a Tris y a María por los inicios, a Laura, nuestra *secre* favorita por su paciencia infinita y a las chicas de la hemeroteca por su disponibilidad y eficacia. A la Facultad y el Hospital de Veterinaria de la U.C.M., que han colaborado con nosotros, y especialmente a Alejandra por su disposición y su ayuda. También a cada interno de vacas que ha participado y a cada compañero que me ha apoyado y ha creído en el proyecto. Y de entre estos últimos, muy especialmente a Iñaki Espinosa, por tan buenos ratos, por ser la otra mitad de la toracoscopia, porque nada hubiese sido posible sin tu tenacidad, tu optimismo, tus ganas y tu fe, y por creer desde el principio con tanta fuerza que sería posible, aun cuando yo no lo veía claro.

A mis directores de tesis Juan Vicente, Susana y Antonio por darme tantos ánimos, por vuestras impagables enseñanzas, vuestros conocimientos y vuestro tiempo, puestos a mi entera disposición. Y muy especialmente por la oportunidad de trabajar una vez más con vosotros y por la ilusión que me transmitís cada día.

A la Peke y a *mi Boli* por ayudarme con la parte cibernética de esta tesis y por darme tan buenos ratos de trabajo en equipo. ¡Sois grandes, chicas!

Gracias a Cristiana y Raquel por la convivencia diaria en el trabajo en esta loca aventura que siempre será TRIALVET. Gracias por el cariño y el esfuerzo extra para que yo pudiera sentarme a escribir estas palabras y las miles que van a continuación. ¡Gracias chicas, sois las mejores!

Rubio, gracias por tu simpatía y tu positividad, por ser tan cercano, por proponerme un plan B cuando parecía que no llegaríamos y por llamarme para consolarme, aunque te confundas y hables con otra que no soy yo... ¡Gracias!

Juanvi, gracias por ver algo en mí en esa práctica de ambulantes e invitarme a subir a verte más veces. Gracias por enseñarme prácticamente todo lo que merece la pena de lo que sé de medicina de vacas y compartir la pasión de cada nuevo proyecto, de cada nueva granja, de cada nuevo libro y de cada nuevo charco! Gracias por ser capaz de discutir mil veces conmigo sin que esto suponga un muro permanente, por preguntarme mi opinión un poco más cada año, por alegrarte cada vez que tengo un proyecto bonito aunque no sea compartido. Gracias por recordarme que para no ser mediocre hay que estudiar cada día de tu vida y muchas gracias por no insistir demasiado aquel día en que me licencié en que me dedicara a otra cosa que no fueran las vacas.

Su, gracias por inspirarme tanto, por enseñarme tanto, por animarme tanto, por defenderme tanto... Gracias por enrolarte conmigo en tantos líos, echar tantas horas no sólo en esta tesis sino en todas mis ideas locas, por asustarme con los millones de correcciones que hay detrás de tus *me ha gustado mucho*, por estar para mí cada vez que te lo pido, por ser mi amiga, *por estar*, por cada *VAMOS BIEN*, por animarme a hacer las cosas bien hechas, por decirme que las hago mal cuando debes y por dar ese poquito de *miedo* que te dan las personas a las que admiras profundamente.

Lau, gracias por lo que me has enseñado, por ser mi amiga con mayúsculas, por ser un ejemplo de generosidad, de optimismo y de tesón. Gracias por dejarme robarte los chetos y otras tantas cosas, por cada vez de las miles que me has dicho *bichito eres la mejor y qué haría yo sin ti*. Gracias por ser el motor de tantos y tantos proyectos que, de seguro, hoy no serían nada si tú no las hubieses comenzado conmigo. Y mil gracias por volver un buen día, porque sin ti en mi vida quizá hubiese dejado de hacer lo que más me gusta.



Ratón, gracias por ser una sonrisa asegurada al otro lado del teléfono, por cuidarme, por preocuparte, por tu amistad, por tu dulzura y por tu ilusión.

Al resto de mis amigos, imposible nombraros a todos, mi suerte y mi fortuna, mi compañía cuando pasa “algo”. A esos con los que tengo o tuve la suerte de trabajar ya sea en TRIALVET, en VET on-line, en el campo y el sector, y que convierten el trabajo, cada viaje y cada charla en un juego. Y a los de toda la vida y los que lo parecen, gracias, porque sois mi otra familia. A mis Brujis, que me cuidan, me miman, me curan las heridas... Gracias por ser tan especiales, mil veces gracias por ser mis amigas, qué afortunada me siento! Y *mi Trivi*, porque no imagino mi mundo sin tu existencia, sencillamente porque sería otra cosa, porque me rendiría a pensar que no todo es posible y que no hay gente tan maravillosamente diferente.

A toda mi fabulosa familia, gracias! A Javier y Ana por ser otros padres más y confiar tanto en mi opinión y mi persona. A mi abuela, por tu luz y por enseñarme que en la vida se puede ser optimista bajo cualquier circunstancia. A mi tía María por quererme tanto y darme la oportunidad de compartir tu magia. A mis primos por el cariño incondicional que nos tenemos y por todo lo que nos queda por compartir. Héctor, gracias por repetirme tantas veces que hago las cosas bien cuando más lo necesito. A Lauri por ayudarme con esta tesis en lo que podías y dejarme descubrirte un poco más estos últimos años y encontrarme con que tengo una prima alucinante. Y muy especialmente a Fran y Sara, por estar siempre cerca, por ser un ejemplo de que el trabajo duro tiene su recompensa, por pensar en mí, por preocuparos, por darme la tranquilidad de que cuando os necesite saldréis corriendo y por encargarme un sobrino que malcriar!

Mamá, papá, mis locos socarrones, mis mejores apoyos, los que más me hacen sentir importante y única. Gracias por ser la foto viva de la palabra incondicionales, esa voz que siempre me dice de corazón *tú puedes con todo*. Miles de gracias por deslomaros y privaros de tantas cosas para que tengamos mucho más de lo que necesitamos, para que hoy pueda dedicarme a lo que siempre quise. Gracias mamá por poder con todo, por enseñarme a ser fuerte como tú lo eres siempre, a defender lo que es justo y a sonreír ante la adversidad. Gracias papá por enseñarme que las cosas cuestan mucho esfuerzo, por sacrificar tu sudor para que nosotros pudiéramos elegir dónde emplear el nuestro, por decirme que ilusiono y gracias por enseñarme que el trabajo bien hecho es la mejor recompensa. Nunca tendré suficientes palabras de agradecimiento para vosotros...

Abuelo, gracias por enseñarme las cosas más importantes de la vida y llamarlas por su nombre, por darme tanto en tan poquitos años, por dejarme huella, por hacer que *tu Cabecita* se acuerde de ti siempre que hace algo que cree que ha merecido la pena, por pedirte ayuda en cada bache y recibirla siempre de un modo u otro, por hacer que sea lo que soy y por darme un ejemplo de cómo me gustaría ser, por velarme, por leerme, desde donde estés...

Por último a ti... Iñaki. Por la medicina infalible que me das con cada sonrisa, por ver en mí tantas cosas buenas y sacar a flote la mejor parte de entre lo que tengo, por tu innegociable compañía, por ponerme siempre la primera ante cualquier otra cosa, por entender mis prioridades, mis necesidades y mis sueños sin dejar de enseñarme todos los días lo que realmente importa, por hacer que te eche de menos cada día de mi vida aunque te vaya a ver o te haya visto en horas, por tener siempre la palabra que necesito oír, por tu paciencia, por dar tanto y pedir a cambio tan sólo un beso, por cada *tú puedes* mientras me miras a los ojos con esos ojos tuyos tan limpios que me transmiten que lo crees de veras, por cuidarme y cuidarme y cuidarme, por ser tannn buena gente, por ser mucho más que mi otra mitad: ser mi TODO, por lo que te quiero, lo que me quieres y lo especial que es este increíble equipo que hemos formado, por no haberme hecho jamás un reproche por todo de lo que te he privado por esta tesis y tantas otras aventuras... Y muy muy especialmente, por cada abrazo y cada beso que me has robado mientras te regañaba por interrumpirme mientras escribía la tesis...

## ÍNDICE



## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	7
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. IMPORTANCIA DEL GANADO VACUNO DE CARNE Y CEBO.....</b>	<b>15</b>
1.1.1. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN DE CARNE EN EL MUNDO .....	15
1.1.2. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN DE CARNE EN LA UE .....	19
1.1.3. IMPORTANCIA DE LA CARNE Y EL CEBO DE BOVINO EN ESPAÑA.....	21
1.1.4. RELEVANCIA DE LA ACEPTACIÓN SOCIAL.....	30
<b>1.2. IMPORTANCIA DEL SRB EN EL GANADO DE CARNE Y CEBO .....</b>	<b>32</b>
1.2.1. RELEVANCIA ECONÓMICA DEL SRB EN EL GANADO DE CARNE .....	32
1.2.2. IMPORTANCIA DEL SRB EN EL CEBO DE TERNEROS MAMONES.....	35
1.2.3. IMPORTANCIA DEL SRB EN EL CEBO DE TERNEROS PASTEROS .....	35
1.2.4. IMPORTANCIA DEL SRB EN EL CEBO DE CARNE BLANCA .....	36
<b>1.3. CARACTERIZACIÓN DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO .....</b>	<b>38</b>
1.3.1. ETIOPATOGENIA DEL SRB .....	38
1.3.2. CUADRO CLÍNICO Y LESIONES DEL SRB.....	39
1.3.3. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DEL SRB .....	43
<b>1.4. EL DIAGNÓSTICO EN EL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO.....</b>	<b>47</b>
1.4.1. RELEVANCIA DEL DIAGNÓSTICO: IMPLICACIONES Y POSIBILIDADES.....	47
1.4.2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS .....	48
1.4.2.1. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS QUE NO REQUIEREN TOMA DE MUESTRAS.....	48
1.4.2.1.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	48
1.4.2.1.1.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE SRB EN LA MEDICINA INDIVIDUAL...	49
1.4.2.1.1.2. EL DIAGNÓSTICO DEL SRB A NIVEL DE REBAÑO .....	51
1.4.2.1.2. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO QUE NO REQUIEREN TOMA DE MUESTRAS.....	52
1.4.2.1.2.1. AUSCULTACIÓN TORÁCICA .....	52
1.4.2.1.2.2. RADIOLOGÍA.....	53
1.4.2.1.2.3. ECOGRAFÍA .....	54
1.4.2.1.2.4. BRONCOSCOPIA .....	56
1.4.2.1.2.5. TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTERIZADA (TAC) .....	57
1.4.2.1.3. NECROPSIA Y MONITORIZACIÓN <i>POSTMORTEM</i> .....	57
1.4.2.1.3.1. NECROPSIA .....	57
1.4.2.1.3.2. MONITORIZACIÓN <i>POSTMORTEM</i> EN MATADERO .....	59
1.4.2.2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS QUE REQUIEREN TOMA DE MUESTRAS..	61
1.4.2.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS <i>IN VIVO</i> .....	61
1.4.2.2.1.1. MUESTRAS DE SANGRE.....	61
1.4.2.2.1.2. HISOPOS NASALES O NASOFARÍNGEOS.....	62
1.4.2.2.1.3. LAVADO BRONQUIAL Y TRANSTRAQUEAL.....	62
1.4.2.2.2. TOMA DE MUESTRAS <i>POSTMORTEM</i> .....	63

1.4.3.	PRUEBAS LABORATORIALES .....	65
1.4.3.1.	ANALÍTICA SANGUÍNEA: HEMOGRAMA Y PROTEÍNAS .....	65
1.4.3.1.1.	HEMOGRAMA .....	65
1.4.3.1.2.	PROTEÍNAS DE FASE AGUDA (PFA): .....	66
1.4.3.2.	GASOMETRÍA .....	67
1.4.3.3.	SEROLOGÍA.....	68
1.4.3.4.	VIROLOGÍA .....	69
1.4.3.5.	CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS .....	69
1.4.3.6.	HISTOPATOLOGÍA E INMUNOHISTOQUÍMICA (IHC) .....	70
1.4.3.7.	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	70
1.4.3.8.	OTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS MENOS UTILIZADAS .....	71
1.5.	DISPOSITIVOS AUXILIARES Y MÉTODOS NOVEDOSOS.....	72
1.5.1.	MEDIDORES DE CONSUMO .....	72
1.5.2.	MEDIDORES DE ACTIVIDAD.....	73
1.5.3.	MEDIDORES DE TEMPERATURA.....	74
1.5.4.	FONENDOSCOPIO ELECTRÓNICO .....	74
1.5.5.	TORACOSCOPIA .....	75
1.5.5.1.	INDICACIONES DE LA TORACOSCOPIA .....	76
1.5.5.2.	EL EQUIPAMIENTO PARA LA TORACOSCOPIA.....	77
1.5.5.3.	LA TÉCNICA DE LA TORACOSCOPIA.....	78
1.5.5.4.	CONTRAINDICACIONES Y COMPLICACIONES DE LA TC.....	79
1.5.6.	BIOPSIA DE PULMÓN .....	80
1.5.6.1.	BIOPSIA PERCUTÁNEA (BP).....	80
1.5.6.1.1.	INDICACIONES DE LA BIOPSIA PERCUTÁNEA .....	81
1.5.6.1.2.	EQUIPAMIENTO Y TÉCNICAS DE BP Y RESULTADO DE LAS MISMAS.....	81
1.5.6.1.3.	CARACTERÍSTICAS DE LAS BIOPSIAS PERCUTÁNEAS .....	82
1.5.6.1.4.	CONTRAINDICACIONES Y COMPLICACIONES DE LA BP.....	83
1.5.6.2.	BIOPSIA POR ENDOSCOPIA .....	85
1.5.6.2.1.	BIOPSIA PULMONAR TRANSBRONQUIAL .....	85
1.5.6.2.1.1.	INDICACIONES DE LA BIOPSIA PULMONAR TRANSBRONQUIAL .....	85
1.5.6.2.1.2.	CARACTERÍSTICAS DE LA BIOPSIA TRANSBRONQUIAL .....	86
1.5.6.2.1.3.	CONTRAINDICACIONES Y COMPLICACIONES .....	87
1.5.6.2.2.	BIOPSIA PULMONAR POR TORACOSCOPIA .....	87
1.5.6.2.2.1.	INDICACIONES DE LA BIOPSIA PULMONAR POR TC .....	88
1.5.6.2.2.2.	CARACTERÍSTICAS DE LA BIOPSIA PULMONAR POR TC .....	89
1.5.6.2.2.3.	COMPLICACIONES DE LA BIOPSIA PULMONAR POR TC.....	89
1.5.6.2.2.4.	LA BIOPSIA MEDIANTE TC EN EL GANADO VACUNO .....	89
2.	JUSTIFICACIÓN .....	93
3.	OBJETIVOS .....	97
3.1.	OBJETIVO GENERAL .....	97
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	97

<b>4. CAPÍTULO 1.....</b>	<b>103</b>
<b>4.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>103</b>
4.1.1. CEBADEROS: ALOJAMIENTO Y ALIMENTACIÓN .....	103
4.1.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y RECOGIDA DE DATOS .....	104
4.1.2.1. <i>EXPERIMENTO 1</i> .....	106
4.1.2.2. <i>EXPERIMENTO 2</i> .....	107
4.1.3. TRATAMIENTOS DE LOS ANIMALES ENFERMOS .....	108
4.1.3.1. <i>EXPERIMENTO 1</i> .....	108
4.1.3.2. <i>EXPERIMENTO 2</i> .....	108
4.1.4. ANÁLISIS LABORATORIALES .....	108
4.1.5. ANÁLISIS DE DATOS E ÍNDICES CALCULADOS .....	109
4.1.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	109
<b>4.2. RESULTADOS.....</b>	<b>110</b>
4.2.1. EXPERIMENTO 1 .....	110
4.2.1.1. EFICACIA DIAGNÓSTICA DE LOS SIGNOS CLÍNICOS PARA DETECTAR TERNEROS CON ALTO RIESGO DE PADECER SRB .....	110
4.2.1.2. INCIDENCIA DE SRB Y RECAÍDAS.....	111
4.2.1.3. GANANCIA MEDIA DIARIA.....	112
4.2.1.4. RESULTADOS DE LABORATORIO: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS....	112
4.2.2. EXPERIMENTO 2 .....	113
4.2.2.1. INCIDENCIA DE SRB Y RECAÍDAS.....	113
4.2.2.2. GANANCIA MEDIA DIARIA.....	114
4.2.2.3. CONSUMO DE ALIMENTO, ÍNDICE DE CONVERSIÓN Y PORCENTAJE DE RENDIMIENTO A LA CANAL.....	114
4.2.2.4. LESIONES PULMONARES .....	114
4.2.2.5. RESULTADOS DE LABORATORIO: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS....	115
4.2.3. REACCIONES ADVERSAS .....	115
4.3. DISCUSIÓN .....	116
4.4. CONCLUSIONES .....	118
<b>5. CAPÍTULO 2.....</b>	<b>121</b>
<b>5.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>121</b>
5.1.2. ANIMALES, INSTALACIONES Y EQUIPAMIENTO .....	121
5.1.3. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO .....	124
5.1.4. MEDIDAS Y PARÁMETROS.....	125
5.1.5. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	128
5.1.5.1. EXPERIMENTO 1 .....	128
5.1.5.2. EXPERIMENTO 2 .....	128
5.1.6. PROCESADO DE DATOS Y ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	129
<b>5.2. RESULTADOS.....</b>	<b>129</b>
5.2.1. <i>EXPERIMENTO 1</i> .....	129
5.2.2. <i>EXPERIMENTO 2</i> .....	134
5.2.3. <i>COMPARACIÓN ENTRE LOS EQUIPOS DE Sonda RÍGIDA Y FLEXIBLE (EQUIPAMIENTO 1 VS. EQUIPAMIENTO 2)</i> .....	138
5.3. DISCUSIÓN .....	139
5.4. CONCLUSIONES .....	143

<b>6. CAPÍTULO 3.....</b>	<b>147</b>
<b>6.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>148</b>
6.1.1. ANIMALES Y PROCEDIMIENTO.....	148
6.1.1.1. <i>EXPERIMENTO 1</i> .....	148
6.1.1.2. <i>EXPERIMENTO 2</i> .....	148
6.1.2. CONSERVACIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS.....	149
6.1.3. EQUIPAMIENTO.....	149
6.1.4. RECOGIDA Y PROCESADO DE DATOS .....	150
<b>6.2. RESULTADOS.....</b>	<b>151</b>
6.2.1. <i>EXPERIMENTO 1</i> .....	151
6.2.2. <i>EXPERIMENTO 2</i> .....	155
<b>6.3. DISCUSIÓN.....</b>	<b>157</b>
<b>6.4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>160</b>
<b>7. CAPÍTULO 4.....</b>	<b>163</b>
<b>7.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>163</b>
7.1.1. INSTALACIONES, ANIMALES Y PROCEDIMIENTO .....	163
7.1.2. EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS <i>IN VIVO</i> .....	165
7.1.3. CONSERVACIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS.....	166
7.1.4. ANÁLISIS LABORATORIALES .....	168
7.1.5. EQUIPAMIENTO .....	169
<b>7.2. RESULTADOS.....</b>	<b>170</b>
7.2.1. RESULTADOS DE LA EXPLORACIÓN CLÍNICA.....	171
7.2.2. RESULTADOS DEL EXAMEN ECOGRÁFICO .....	171
7.2.3. RESULTADOS DEL EXAMEN TORACOSCÓPICO.....	172
7.2.4. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO .....	173
7.2.5. RESULTADOS DE LA NECROPSIA.....	177
<b>7.3. DISCUSIÓN.....</b>	<b>178</b>
<b>7.4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>182</b>
<b>8. DISCUSIÓN GLOBAL DE RESULTADOS .....</b>	<b>185</b>
<b>9. CONCLUSIONES GLOBALES .....</b>	<b>195</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>199</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>225</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Nº DE TABLA	TÍTULO	PUNTO DEL ÍNDICE	PÁGINA
1	Panorama del mercado mundial de la carne, años 2012-2013 y pronósticos para 2014. Perspectivas alimentarias-análisis del mercado mundial (FAO, 2014)	1.1.1	16
2	Principales productores mundiales de carne de vacuno, año 2010	1,1,1	16
3	Número estimado de cabezas de ganado en el mundo	1.1.1	17
4	Principales países exportadores de carne de vacuno	1.1.2	19
5	Principales países importadores de carne de vacuno	1.1.2	20
6	Distribución del censo por razas por CCAA en 2011	1.1.3	28
7	Antimicrobianos con uso metafiláctico en el ganado bovino	1.3.3	46
8	Protocolo de puntuación de SRB en terneros	1.4.2.1.1.1	50
9	Protocolo diagnóstico de SRB en terneros lactantes y posdestete	1.4.2.1.1.1	50
10	Protocolo diagnóstico de SRB en terneros alojados en cebaderos	1.4.2.1.1.1	51
11	Indicaciones para la remisión de los principales tejidos para el diagnóstico <i>postmortem</i> de SRB	1.4.2.2.2	64
12	Comparación de las técnicas para la obtención de biopsias pulmonares en medicina humana	1.5.6.2.2	88
13	Características de los terneros de alto riesgo de padecer SRB en cada réplica del ensayo clínico	4.1.1	104
14	Protocolo para la valoración de los signos clínicos para el diagnóstico de SRB en terneros de cebo	4.1.2	105
15	Índices de enfermedad y ganancia de peso media diaria (GMD) durante los 30 primeros días del cebo en terneros expuestos a un alto riesgo de padecer SRB (experimento 1)	4.2.1.2	111
16	Resultados de serología del día cero y tasas de seroconversión a día 15 para los principales virus respiratorios (IBR, DVB, PI-3, VRSB) en terneros de cebadero	4.2.1.4	112
17	Índices de enfermedad y resultados productivos durante los primeros 28 días del periodo de cebo al comparar un grupo de metafilaxia selectiva con florfenicol y otro grupo de metafilaxia en masa con tulatromicina (experimento 2)	4.2.2.2	114
18	Medidas y parámetros, clasificados por categorías, valorados en el estudio de aplicación de la toracoscopia en terneros de cebo enfermos con SRB	5.1.4	127
19	Evaluación de las diferentes variables de los parámetros del animal (Parámetros tipo A), de la técnica (Parámetros tipo B) y de la seguridad (Parámetros tipo C) en terneros con SRB. El experimento 1 se realizó en terneros hospitalizados y el experimento 2, fundamentalmente en condiciones de campo	5.2.1	130
20	Valoración de los diferentes abordajes torácicos para la realización de toracoscopia en terneros usando un endoscopio rígido (equipamiento 1 )	5.2.1	131
21	Parámetros relativos a la técnica y a la seguridad de la misma utilizando diferentes equipos de endoscopios rígido (equipo 1) o flexible (equipo 2) y videoscopios industriales de baja (equipo 3ª) y alta calidad (equipo 3b), usados para realizar toracoscopias en terneros afectados por SRB	5.2.1	131
22	Valoración global de los diferentes abordajes empleados para realizar la toracoscopia en terneros enfermos de SRB con ópticas flexibles	5.2.2	134



Nº DE TABLA	TÍTULO	PUNTO DEL ÍNDICE	PÁGINA
23	Resultados de las características del parénquima contenido en las muestras de biopsia pulmonar por toracoscopia en ganado bovino	6.2.1	151
24	Resultados de las características de la pleura contenida en las muestras de biopsia pulmonar por toracoscopia en ganado bovino	6.2.1	152
25	Posibles factores de riesgo del experimento 1	6.2.1	153
26	Posibles indicadores macroscópicos del experimento 1	6.2.1	154
27	Posibles indicadores macroscópicos del experimento 2	6.2.2	153
28	Protocolo para la valoración de los signos clínicos para el diagnóstico de SRB en terneros de cebo	7.1.1	164
29	Tipos de muestras biológicas tomadas <i>in vivo</i> en tres terneros de cebo con SRB	7.1.2	166
30	Número total de pruebas diagnósticas de laboratorio realizadas por cada tipo de muestra obtenida a partir de terneros de cebo con SRB	7.1.3	167
31	Resultados obtenidos en cada ternero de cebo, con SRB clínico, en función del procedimiento diagnóstico aplicado para su diagnóstico	7.2	170
32	Resultados de las pruebas de gasometría y bioquímica en sangre arterial expresados como medias $\pm$ DE obtenidas a partir de terneros de cebo con síndrome respiratorio bovino sometidos a un procedimiento de toracoscopia en condiciones experimentales	7.2.5	174
33	Comparativa de los valores medios de gasometría obtenidos en dos terneros afectados por SRB antes, durante y después de la toracoscopia con los valores de referencia en las mismas condiciones en vacas sanas descritos por Michaux <i>et al.</i> , 2014	7.3	180

## ÍNDICE DE FIGURAS

Nº DE FIGURA	TÍTULO	PUNTO DEL ÍNDICE	PÁGINA
1	Producción de carne a nivel global 1990-2013 (en millones de toneladas métricas)	1.1.1	17
2	Principales importadores de carne a nivel mundial en 2014 y 2015 hasta los meses de marzo	1.1.1	18
3	Principales exportadores de productos cárnicos a nivel mundial en 2014 y 2015 hasta los meses de marzo	1.1.1	18
4	Producción de carne y terneros en Europa en toneladas en los años 2013-2015	1.1.2	19
5	Porcentaje de cabezas de vacuno en Europa por categorías en 2015 respecto a las de 2014	1.1.2	20
6	Exportación de carne de la UE 2013-14	1.1.2	21
7	Importación de carne de la UE 2013-14	1.1.2	21
8	Evolución del consumo de carne de vacuno en España durante el periodo 2008-2013	1.1.3	22
9	Evolución de la producción de carne de vacuno en España en los últimos 20 años	1.1.3	22
10	Evolución de las importaciones y exportaciones de carne de vacuno en España	1.1.3	23
11	Destino de las exportaciones de carne de vacuno en España, año 2013	1.1.3	23
12	Origen de las importaciones de carne de vacuno en España	1.1.3	24
13	Destino del ganado de carne exportado vivo desde España durante 2013	1.1.3	26
14	Exportación de terneros por categorías desde España	1.1.3	27
15	Importación de terneros en España por categorías	1.1.3	27
16	Distribución geográfica de las explotaciones de cebo en España en 2011	1.1.3	28
17	Tamaño medio de las explotaciones de cebo por CCAA en España en 2011	1.1.3	29
18	Distribución del censo por razas	1.1.3	29
19	Mortalidad media por SRB por meses (periodo 1990-2008)	1.2.1	34
20	Porcentaje de muertes en ganado de cebo (1989-2008) en dos categorías de peso (301-650 y 651-900 libras)	1.2.1	34
21	Coste medio del tratamiento en ganado de cebo (1989-2008) en dos categorías de peso (301-650 y 651-900 libras)	1.2.1	34
22	Causas de mortalidad en terneros de carne blanca	1.2.4	37
23	Patrones pulmonares de las neumonías más importantes en el ganado vacuno	1.3.2	41
24	Áreas de auscultación (A-D) en terneros	1.4.2.1.2.1	52
25	Radiografía de un pulmón normal, ventilado	1.4.2.1.2.2	53
26	Radiografía de un pulmón con bronconeumonía grave	1.4.2.1.2.2	53
27	Ecografía de un pulmón sano	1.4.2.1.2.3	54
28	Ecografía de un pulmón con neumonía	1.4.2.1.2.3	55
29	Imagen de broncoscopia en un ternero	1.4.2.1.2.4	56
30	Hoja tipo de recogida de datos	1.4.2.1.3.1	58
31	Clasificación de lesiones pulmonares de Leruste	1.4.2.1.3.2	60
32	Biopsia pulmonar transbronquial bovina donde se observan inclusiones de <i>C. psittaci</i>	1.5.6.2.1.2	86

Nº DE FIGURA	TÍTULO	PUNTO DEL ÍNDICE	PÁGINA
33	Porcentaje acumulado de animales que requirieron tratamiento para SRB en los grupos con metafilaxia (GAT+ y GBT+) y sin metafilaxia (GAT- y GBT-), en 287 terneros llegados a cuatro cebaderos (experimento 1)	4.2.1.2	111
34	Porcentaje acumulado de terneros de cebo que requirieron tratamiento para SRB en los grupos MSF y MMT durante los primeros 30 días del periodo de cebo (experimento 2)	4.2.2.1	113
35	Endoscopio rígido	5.1.2	123
36	Endoscopio flexible (broncoscopio)	5.1.2	123
37	Videoscopio industrial de baja calidad	5.1.2	123
38	Videoscopio industrial de alta calidad	5.1.2	123
39	Trócar metálico y cánula de plástico para el acceso al tórax	5.1.2	123
40	Pistola para la extracción del aire	5.1.2	123
41	Áreas de bordaje quirúrgico usadas para insertar el toracoscopia en terneros afectados por SRB	5.1.3	124
42	Lesiones de SRB observadas mediante toracoscopia usando diferentes endoscopios y/o videoscopios industriales en terneros con SRB	5.2.1	133
43	Imagen de las secuelas de la primera toracoscopia en un ternero 22 días después	5.2.1	133
44	Imagen endoscópica de abscesos neumónicos en un ternero con SRB	5.2.1	133
45	Imagen endoscópica de un pulmón de ternero con lesiones agudas y crónicas	5.2.2	136
46	Imagen endoscópica de un pulmón de ternero con lesiones crónicas	5.2.2	136
47	Combinaciones de diferentes lesiones de SRB observadas mediante toracoscopia usando diferentes endoscopios y/o videoscopios industriales en terneros con SRB	5.2.2	137
48	Imagen endoscópica de adherencias pulmonares observadas <i>in vivo</i> en un ternero de cebo afectado de SRB. Exploración efectuada con endoscopio flexible mediante abordaje alto, con el ternero en estación	5.2.2	137
49	Imagen de la parte caudal de la cavidad torácica de un ternero mediante toracoscopia	5.3	140
50	Imagen del pericardio de un ternero mediante toracoscopia con broncoscopio flexible	5.3	141
51	Muestras de biopsia de pulmón obtenida mediante pinza de toracoscopio en terneros <i>postmortem</i> (experimento 1)	6.1.2	149
52	Muestras de biopsia de pulmón obtenida mediante pinza de toracoscopio en terneros <i>in vivo</i> (experimento 2)	6.1.2	149
53	Imagen de una muestra de pulmón válida para su estudio histopatológico, obtenida de terneros <i>postmortem</i> (experimento 1)	6.2.1	151
54	Hallazgos histopatológicos a partir de muestras válidas de biopsia mediante pinza toracoscópica a partir de pulmones de terneros <i>postmortem</i> e <i>in vivo</i> (experimentos 1 y 2, respectivamente)	6.2.1	155
55	Imagen de una muestra de pulmón válida obtenida mediante toracoscopia en terneros vivos (experimento 2)	6.2.2	155
56	Imagen de una muestra de biopsia de pulmón con infiltrado leucocitario intenso tomada mediante toracoscopia en un ternero vivo (experimento 2)	6.2.2	156
57	Imágenes ecográficas de neumonía en los lóbulos craneales de los tres terneros por orden numérico	7.2.2	172

<b>Nº DE FIGURA</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>PUNTO DEL ÍNDICE</b>	<b>PÁGINA</b>
58	Imágenes de biopsias de pulmón obtenidas mediante toracoscopia de los lóbulos craneales derechos de los terneros con SRB T-1, T-2 y T-3, de izquierda a derecha, respectivamente	7.2.4	176
59	Imágenes macroscópicas de necropsia del pulmón de un ternero con SRB crónico de pronóstico fatal, eutanasiado, donde se aprecia una mayor afectación de los lóbulos craneales y la parte ventral de los caudales	7.2.5	177
60	Imágenes macroscópicas de necropsia del pulmón de un ternero con SRB crónico de pronóstico fatal, eutanasiado, donde se aprecia una mayor afectación de los lóbulos craneales y la parte ventral de los caudales	7.2.5	177
61	Imagen macroscópica del corte del lóbulo pulmonar craneal derecho del pulmón de un ternero con SRB crónico de pronóstico fatal, eutanasiado, donde se apreciaban microabscesos y focos neumónicos	7.2.5	177
62	Muestra de biopsia pulmonar obtenida de un ternero mediante toracoscopia con un punteado rosáceo apreciable macroscópicamente	8	190
63	Imagen del momento de la toma de biopsia pulmonar por toracoscopia obtenida de un ternero con SRB	8	191
64	Imagen de las secuelas producidas por una toma de biopsia pulmonar por toracoscopia obtenida de un ternero con SRB cinco días antes, donde se pueden observar restos de pequeñas hemorragias	8	191



## ÍNDICE DE VÍDEOS

Nº DE VÍDEO	TÍTULO	PUNTO DEL ÍNDICE	PÁGINA
1	Broncoscopia realizada en un ternero con SRB	1.1.2.1.2.4	56
2	Abscesos pulmonares producidos por <i>M. bovis</i> , observados mediante toracoscopia en un ternero con SRB	5.2.1	133
3	Adherencias pulmonares observadas mediante toracoscopia en un ternero con SRB	5.2.2	137
4	Momento de la toma de biopsia pulmonar mediante toracoscopia en un ternero con SRB	6.3	160
5	Resumen de la exploración toracoscópica del pulmón del caso T-1 (ternero con SRB)	7.2.3	172
6	Resumen de la exploración toracoscópica del pulmón del caso T-2 (ternero con SRB)	7.2.3	172
7	Resumen de la exploración toracoscópica del pulmón del caso T-3 (ternero con SRB)	7.2.3	172
8	Momento de la toma de biopsia pulmonar en el lóbulo craneal de un ternero con SRB mediante toracoscopia	8	191
9	Momento de la toma de biopsia pulmonar en el lóbulo caudal de un ternero con SRB mediante toracoscopia	8	191



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	TÉRMINO
(T) <sub>c</sub>	VALORES CORREGIDOS POR LA TEMPERATURA CORPORAL
AA	ABSCESOS
Ac	ANTICUERPOS
AE	AIRE EXTRAÍDO
AV	ALCANCE DE VISUALIZACIÓN. CAPÍTULO 2
BAL	LAVADO BRONCOALVEOLAR
BT	BIOPSIA POR TORACOSCOPIA
CB	CULTIVO BACTERIOLÓGICO
cCa <sup>2+</sup>	CONCENTRACIÓN DE CALCIO
cCl <sup>-</sup>	CONCENTRACIÓN DE CLORO
cGlu	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA
cHCO <sub>3</sub>	CONCENTRACIÓN DE BICARBONATO
CI	CALIDAD DE LA IMAGEN. CAPÍTULO 2
CIO	COMPLICACIONES INTRAOPERATORIAS
cK <sup>+</sup>	CONCENTRACIÓN DE POTASIO
cLac	CONCENTRACIÓN DE LACTATO
cNa <sup>+</sup>	CONCENTRACIÓN DE SODIO
CVT	CIRUGÍA VIDEO-TORACOSCOPICA
DE	DESVIACIÓN TÍPICA
DVB	DIARREA VÍRICA BOVINA
E	ESPACIO INTERCOSTAL EN ORDEN CAUDO-CRANEAL
EEB	ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA
ELISA	ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY
Es	ESPECIFICIDAD
F	FIBRINÓGENO
F1	FIBRINÓGENO DEL DÍA D ELA 1ª TORACOSCOPIA
F2	FIBRINÓGENO 6D DESPUÉS DE LA 2ª TORACOSCOPIA
FNA	ASPIRADO CON AGUJA FINA
FTA	FAST TECHNOLOGY FOR ANALYSIS OF NUCLEIC ACIDS
G/B	GASOMETRÍA Y BIOQUÍMICA SANGUÍNEA
GAT	GRUPO DE ALTA TEMPERATURA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GAT-	GRUPO DE ALTA TEMPERATURA SIN METAFILAXIA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GAT+	GRUPO DE ALTA TEMPERATURA CON METAFILAXIA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GBT	GRUPO DE BAJA TEMPERATURA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GBT-	GRUPO DE BAJA TEMPERATURA SIN METAFILAXIA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GBT+	GRUPO DE BAJA TEMPERATURA CON METAFILAXIA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 1
GMD	GANANCIA MEDIA DIARIA
HP	HISTOPATOLOGÍA
HVB-1	HERPESVIRUS BOVINO TIPO 1
IBR	RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA
IC	INTERVALO DE CONFIANZA
ID	ÍNDICE DE DOLOR



ABREVIATURA	TÉRMINO
IHC	INMUNOHISTOQUÍMICA
IM	VÍA INTRAMUSCULAR
INTRA-TC	DURANTE LA TC. CAPÍTULO 4
IP3	VIRUS DE LA PARAINFLUENZA TIPO 3
IV	VÍA INTRAVENOSA
LA	LESIÓN AGUDA
LC	LESIÓN CRÓNICA
LO	LESIONES OBSERVADAS DE SRB
MMT	GRUPO DE METAFILAXIA EN MASA CON TULATROMICINA. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 2
MSF	GRUPO DE METAFILAXIA SELECTIVA CON FLORFENICOL. CAPÍTULO 1. EXPERIMENTO 2
P	PULMÓN DE NECROPSIA
PaCO <sub>2</sub>	PRESIÓN PARCIAL DE DIÓXIDO DE CARBONO EN SANGRE ARTERIAL
PaO <sub>2</sub>	PRESIÓN PARCIAL DE OXÍGENO DE CARBONO EN SANGRE ARTERIAL
PC	PARED COSTAL
PCR	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA
PCR-bvr	PCR DE BACTERIAS Y VIRUS RESPIRATORIOS
PCR-m	PCR PARA DETECCIÓN DE <i>M. bovis</i>
PFA	PROTEINAS DE FASE AGUDA
PI	POSITIVIDAD INICIAL (CAPÍTULO 1)
PI-3	VIRUS DE LA PARAINFLUENZA TIPO 3
PN	PULMÓN DE NECROPSIA
POST-TC	10 MINUTOS DESPUÉS DE REALIZAR LA TC. CAPÍTULO 4
PR	PERIODO DE RECUPERACIÓN. CAPÍTULO 2
PRE-TC	10 MINUTOS ANTES DE REALIZAR LA TC. CAPÍTULO 4
PV	PESO VIVO
PV1	PESO VIVO EN EL DÍA DE LA TORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2. EXPERIMENTO 1
PV2	PESO VIVO 22D POSTORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2. EXPERIMENTO 1
RC	RIESGO DE COLAPSO PULMONAR PASIVO. CAPÍTULO 2
RL	RIESGO DE LACERACIÓN O PERFORACIÓN PULMONAR. CAPÍTULO 2
RPM	RESPIRACIONES POR MINUTO
RPM1	MEDIA DE RESPIRACIONES POR MINUTO ANTES DE LA TORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2
RPM2	MEDIA DE RESPIRACIONES POR MINUTO DURANTE LA TORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2
RPM3	MEDIA DE RESPIRACIONES POR MINUTO DESPUÉS DE LA TORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2
RT-PCR	PCR A TIEMPO REAL
S	SECUELA
SA	SANGRE ARTERIAL
SaO <sub>2</sub>	SATURACIÓN DE OXÍGENO EN SANGRE ARTERIAL
SC	VÍA SUBCUTÁNEA
SCN	PORCENTAJE DE SEROCONVERSIÓN A DÍA 15 DEL ESTUDIO (CAPÍTULO 1)
Se	SENSIBILIDAD

ABREVIATURA	TÉRMINO
SRB	SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO
SV	SANGRE VENOSA
T	TIEMPO DE DURACIÓN DE LA TORACOSCOPIA. CAPÍTULO 2
T <sup>a</sup>	TEMPERATURA RECTAL
TAC	TOMOGRFÍA AXIAL COMPUTERIZADA
TTW	LAVADO TRANSTRAQUEAL
UE	UNIÓN EUROPEA
VATS	<i>VIDEO ASSISTED THORACIC SURGERY</i> : CIRUGÍA TORÁCICA VÍDEOASISTIDA
VPN	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
VPP	VALOR PREDICTIVO POSITIVO
VRSB	VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL BOVINO



## **RESUMEN / SUMMARY**



## RESUMEN

A pesar de todos los avances realizados en las últimas décadas en el conocimiento sobre numerosos aspectos del Síndrome Respiratorio Bovino (SRB), entre los que se encuentran los factores de riesgo, la etiopatogenia, las características de los agentes causales, el diagnóstico, la terapéutica o la profilaxis y sus efectos globales, el SRB continúa siendo la enfermedad de mayor impacto económico en el ganado vacuno de cebo. Además, parece que tanto su incidencia como las pérdidas que origina siguen estables en los cebaderos de todo el mundo desde hace varias décadas. Sus principales características indican que debemos considerar que es una enfermedad de difícil control dado su carácter multifactorial y con la que, por tanto, debemos acostumbrarnos a convivir aunque aspirando a minimizar tanto su incidencia, como la gravedad de sus consecuencias.

Por otro lado, aunque existen muchas técnicas diagnósticas a nuestra disposición, aún no se puede decir que exista una técnica de referencia o “gold standard” para el diagnóstico del SRB, y mucho menos una técnica estandarizada para su diagnóstico precoz. Establecer y estandarizar protocolos para la detección de grupos de animales en riesgo y su monitorización más intensa en fases posteriores del cebo para reducir el consumo de antibióticos de uso preventivo o metafiláctico es de gran interés.

Hasta ahora, este tipo de estrategias se han basado en la detección de evidencias de contacto con gérmenes patógenos pulmonares (principalmente análisis de serología). Sin embargo, no debemos olvidar que la identificación de un agente patógeno en ausencia de una lesión y/o signos clínicos atribuibles al mismo, tan sólo es indicativa de contacto previo (no de padecimiento de un proceso de enfermedad) y que, por otro lado, la mayoría de los agentes microbiológicos ligados al SRB son comensales habituales de las vías respiratorias altas. De modo que la identificación de un agente sólo prueba enfermedad si se diagnostica junto con los signos clínicos compatibles de enfermedad y la lesión.

Por otro lado, aunque seamos capaces de detectar la enfermedad, esto tampoco dilucida si estamos ante un proceso de tipo agudo o crónico en muchos casos, como tampoco el agente causal, ya que apenas hay signos clínicos o lesiones patognomónicas de SRB. Estas últimas características de la enfermedad (fase aguda o crónica, y etiología predominante), son esenciales para reducir el impacto

que el SRB provoca en el sistema productivo del cebo de terneros, y es un tipo de información que debería ser capaz de ofrecer una técnica de diagnóstico de referencia, mejor aún si es aplicable en animales vivos.

Una técnica de diagnóstico eficaz y precoz nos permitirá, por un lado, elevar el nivel de bienestar animal en los cebaderos, reduciendo la cantidad de animales enfermos (la prevalencia), y el tiempo de enfermedad por animal, lo que dará lugar a una mayor aceptación social de este tipo de sistemas productivos, cada vez más cuestionados en nuestra sociedad. Por otro lado, podrá derivar en un menor uso general de antibióticos (reduciendo las recaídas y los casos crónicos) por una mayor eficacia de los mismos, lo que vuelve a redundar en una mayor aceptación social, además de un mejor rendimiento económico. Finalmente, un mayor porcentaje de animales sanos y un menor uso de medicamentos en los lotes de cebo suponen una mayor rentabilidad económica, lo que ayuda a la sostenibilidad de estas explotaciones.

La toracoscopia es una técnica diagnóstica ya descrita como sencilla y segura para la observación de los pulmones en bovinos sanos que, de comportarse igual en animales enfermos por SRB, permitiría el acceso a todo el pulmón, con la posibilidad de mapearlo y tomar biopsias para determinar la causa etiológica específica de las lesiones concretas, lo que facilitaría establecer así la cronología de las lesiones. Además, cumple con los requisitos previamente citados de ofrecer un diagnóstico inmediato en animales vivos y ofreciendo información sobre la fase de enfermedad (aguda o crónica).

En base a todo lo dicho, el objetivo general del trabajo experimental correspondiente a esta Tesis Doctoral consistía en aportar herramientas para reducir el impacto negativo del SRB en los cebaderos de terneros mediante la implementación de técnicas diagnósticas válidas para detectar de manera precoz los animales con mayor riesgo de padecer SRB a nivel de rebaño (temperatura rectal y su punto de corte para detectar animales en riesgo), y mediante el diagnóstico etiológico veraz a nivel individual describiendo el patrón pulmonar in vivo (aplicación de la toracoscopia diagnóstica y la biopsia toracoscópica).

El trabajo experimental correspondiente al primer capítulo de esta Tesis Doctoral tuvo como objetivo específico la determinación del punto de corte de temperatura corporal para la detección de terneros en alto riesgo de sufrir SRB a la entrada en

el cebadero, así como su validación mediante la aplicación de metafilaxia parcial y evaluación del resultado de enfermedad posterior en cebaderos comerciales.

En este sentido, se demostró que, de todos los signos clínicos valorados, solamente la temperatura rectal, con un punto de corte  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ , resultó tener valor diagnóstico de manera significativa ( $P=0,02$ ) para predecir futuros casos de SRB y por tanto, detectar, a la entrada en el cebadero, terneros en alto riesgo de sufrir SRB en fases posteriores, con una sensibilidad del 92% y una especificidad del 20%.

Además, demostramos que aplicando este punto de corte de temperatura rectal de  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  como criterio para metafilaxia selectiva con antibiótico a la entrada al cebadero, se alcanzan los mismos resultados productivos (mismo índice de ganancia de peso media diaria, de conversión y porcentaje de rendimiento a la canal) y de salud [semejante incidencia de SRB (24,6% vs. 28,1%), de recaídas (24,6 vs. 31,3%), y porcentaje de pulmones con lesiones (38,6% vs. 36,4%;)], respecto de la metafilaxia total.

De modo que, en base a estos resultados, podemos establecer un protocolo para minimizar el impacto de enfermedad y simultáneamente el uso de antibióticos y detectar, al mismo tiempo, el grupo de animales en mayor riesgo de enfermar.

Partiendo de este punto y bajo la premisa del conocimiento de que, dadas las características del SRB, siempre existirá un porcentaje de animales enfermos pese a estas medidas, trabajamos en el segundo, tercer y cuarto objetivos experimentales de esta Tesis Doctoral para desarrollar una técnica diagnóstica eficaz aplicable a terneros enfermos de SRB.

En el segundo trabajo experimental nos marcamos como objetivo demostrar la idoneidad e inocuidad de la técnica de toracoscopia en el diagnóstico de SRB en terneros enfermos y en condiciones de campo, así como determinar el protocolo óptimo de la técnica toracoscópica de exploración pulmonar en estas condiciones.

En esta fase experimental demostramos por primera vez la utilidad de la toracoscopia como una técnica de diagnóstico fácil, segura y rápida, que puede ser aplicada en terneros enfermos de SRB en condiciones de campo, con claras ventajas en comparación con otros métodos exploratorios. Comparamos el uso de diferentes tipos de equipamiento, abordajes y técnicas exploratorias, teniendo en



cuenta el bienestar animal durante y después de los procedimientos, la información diagnóstica obtenida y la facilidad de aplicación. En base a los resultados, determinamos que lo ideal es el uso de endoscopios flexibles, con el animal en estación, introduciendo la óptica a través de un abordaje en el tercio superior del hemitórax derecho, entre los espacios intercostales cuarto y sexto en orden caudo-craneal (o séptimo y noveno cráneo-caudalmente), sin necesidad de extracción de aire intratorácico ni insuflación de CO<sub>2</sub>. Esta técnica permitió la exploración completa de los pulmones en 15 minutos, y posibilitó la diferenciación de las lesiones pulmonares crónicas y agudas, así como la observación de adherencias en terneros vivos con SRB, sin poner en peligro el bienestar animal ni la salud de los terneros.

En base a estos resultados, decidimos optimizar el potencial de la técnica de toracoscopia como herramienta diagnóstica y pronóstica combinando la exploración del tórax en terneros enfermos de SRB con la toma de biopsias pulmonares como muestra potencial para el diagnóstico etiológico e histopatológico.

Para ello, desarrollamos la fase experimental contenida en el tercer capítulo de esta Tesis Doctoral, cuyos objetivos fueron la evaluación de la calidad de las muestras pulmonares obtenidas mediante biopsia con el equipamiento de toracoscopia, de la influencia de factores específicos sobre la calidad de dichas muestras obtenidas, así como la determinación del protocolo óptimo de biopsia pulmonar. El trabajo se efectuó, en primera instancia, en pulmones postmortem y posteriormente en terneros de cebo enfermos de SRB y en condiciones de campo.

Mediante esta fase experimental se pudo obtener, en el 100% de los animales muestreados, al menos, una muestra válida por animal para su diagnóstico (primera fase en pulmones postmortem y después in vivo), alcanzando mejores resultados en los muestreos posmortem (91,25%; 73/80) que en terneros in vivo (46,67%; 7/15).

La pleura visceral en el bovino resultó tener mayor grosor en los lóbulos caudales respecto de los craneales. La raza y edad del ternero no influyeron significativamente en el grosor de la pleura de las muestras de biopsia, pero se observó una tendencia significativa a un mayor grosor pleural en los machos que

en hembras y una mayor superficie pleural en las muestras de los animales con peso  $\geq 250$  kg.

Los factores específicos determinantes de la validez de las muestras y del porcentaje de muestras válidas obtenidas mediante biopsia toracoscópica en el bovino fueron el grosor de la pleura visceral (menor validez cuanto mayor grosor) y la superficie de parénquima pulmonar (mayor validez cuanto más parénquima), la presencia o no de adherencias completas (validez nula en caso de adherencias completas), el lóbulo pulmonar de elección (preferible craneal vs. caudal), el peso vivo de los animales (mayor validez con peso  $< 250$  kg), y su sexo (mayor validez en hembras), además de la experiencia de los endoscopistas.

La estimación macroscópica realizada por parte del endoscopista de la probable presencia de tejido pulmonar en base al punteado rosáceo de la muestra resultó ser útil para prever la presencia real posterior de tejido pulmonar en la biopsia ( $Se=97,2\%$ ;  $Es=71,4\%$ ; valor  $\kappa=0,687$  y  $P<0,0001$ ), lo que es de gran valor práctico, ya que se puede decidir de manera intraoperatoria, si es necesario o no repetir la biopsia.

Por tanto, se determinó que el protocolo óptimo de biopsia pulmonar mediante toracosopia en terneros de cebo y en condiciones de campo debe basarse en biopsiar animales sin adherencias completas, tomar las muestras a partir de los lóbulos craneales y seleccionar las muestras que exhiban un punteado rosáceo apreciable macroscópicamente, para lograr una máxima probabilidad de obtener muestras válidas para posteriores análisis laboratoriales y de valor diagnóstico.

Una vez establecido el protocolo óptimo de biopsia vía toracoscópica y demostrado el potencial diagnóstico de las muestras de biopsia por este método, desarrollamos la última fase experimental de este trabajo de Tesis Doctoral, plasmado en el cuarto capítulo de la misma, donde el objetivo fue evaluar la capacidad diagnóstica global de la toracosopia en el SRB, comparándola con otras técnicas diagnósticas aplicadas más o menos rutinariamente en el campo, y con otras técnicas de extracción de muestras de fluidos y tejidos, también de aplicación más o menos rutinaria en caso de terneros con SRB.

En este último estudio demostramos no sólo una alta correlación de la información obtenida mediante la exploración toracoscópica con la obtenida mediante

ecografía y con la necropsia. Además, la toracoscopia permitió diferenciar procesos agudos y crónicos de manera inmediata en el animal vivo, y emitir un diagnóstico presuntivo del agente etiológico específico y/o predominante y un pronóstico más acertado, respecto de la ecografía y de la exploración clínica. Por otro lado, demostramos la gran utilidad diagnóstica de la biopsia pulmonar por vía toracoscópica in vivo, aportando información completa y descriptiva de las características de la lesión y del agente causal, inclusive en el caso de gérmenes de difícil diagnóstico, con mejores resultados que las técnicas analíticas aplicadas sobre otros tipos de muestras biológicas rutinarias para el diagnóstico de SRB (lavado bronquioalveolar, hisopo nasofaríngeo, muestra sanguínea); y corroborando la seguridad, facilidad y rapidez de su ejecución, en terneros enfermos de SRB.

Aunando los resultados descritos en los cuatro capítulos de esta Tesis Doctoral, pueden describirse medidas diagnósticas y de manejo que repercutirán en un menor número de tratamientos antibióticos, tanto a nivel individual como de rebaño, y por lo tanto, en un uso más eficaz y responsable de los antibióticos, así como en una mejora de la eficiencia productiva del cebadero.

Finalmente, la metodología de la toracoscopia pulmonar, debido a la posibilidad de efectuar estudios secuenciales en un mismo animal, constituye una herramienta de gran interés, no sólo para aplicaciones de tipo diagnóstico y pronóstico en animales enfermos en los cebaderos comerciales, sino para evidenciar la patogenia y la evolución de las lesiones y dar un nuevo soporte en los estudios preclínicos, los ensayos clínicos y la farmacovigilancia, así como proporcionar información sobre la concentración antibiótica en diferentes áreas pulmonares en animales vivos y en diferentes estadios de la enfermedad.

## SUMMARY

During the past decades, knowledge about numerous aspects of Bovine Respiratory Disease (BRD) has increased, for example in the pathogenesis, characteristics of the risk factors, etiology, causal agents, diagnosis, therapy, prevention, etc. Also, numerous investigations about BRD and its global effects have been developed. However, BRD is still the disease showing the highest economic impact within the cattle feedlots. Additionally, it seems that both its incidence and the losses associated to it remain stable in the feedlots around the world since several decades ago. Its main characteristics indicate that this disease is considered difficult to control due to its multifactorial nature and, for this reason, we must get used to live with it, although aspiring to minimize both its incidence and the severity of its consequences.

On the other hand, although many diagnostic techniques are available, a reference or gold standard technique for the diagnosis of the BRD does not exist yet, nor a standardized diagnostic technique for the early diagnosis of the disease. It is of great interest to establish and standardize diagnostic protocols for the detection of groups of animals under risk in order to monitor them in a more efficient way in subsequent feedlot phases of the fattening, especially if this can be used to reduce the administration of preventive or metaphylactic antibiotics.

Up till now, these strategy types have been based on the detection of evidences of contact with pulmonary pathogens (mainly serology analyses). However, we must remember that the identification of a pathogenic agent in the absence of a lesion and/or clinical signs associated to it only indicates a previous contact (not the existence of a disease process) and that, alternatively, the majority of the microbiological agents associated to BRD are frequent commensal organisms of the upper respiratory tract. Therefore, the identification of an agent only demonstrates the existence of a disease when it is diagnosed along with the lesion and the clinical signs are compatible with the disease.

On the other hand, although we are capable of detecting the disease this does not explain the causal agent, as there are only a few pathognomonic BRD lesions, or if it is an acute or chronic process in many cases. The latest characteristics of the disease (acute or chronic phase and main etiology) are essential to reduce the BRD impact on the feedlot system of calves and this information should be able to

provide a reference diagnostic technique, especially if it is applicable to living animals.

An effective and early diagnostic technique would allow to, on the one hand, improve the animals welfare in the feedlots reducing the amount of diseased animals (prevalence) and the time of disease per animal, encouraging a higher social acceptance of these type of productive systems which are increasingly questioned in our society. On the other hand, it will lead to a lower general use (excepting second and third treatments) and a higher efficacy of antibiotics, resulting again in a higher social acceptance and a better economic performance. Finally, a higher percentage of healthy animals and a lower use of drugs in the feedlots batches imply a higher economic performance, helping to maintain the sustainability of these production systems.

The thoracoscopy is already a described technique, simple and safe for the healthy bovines which, if it acted the same way in diseased animals suffering from BRD, would allow the access to the whole lung allowing the mapping and sample collection in order to determine the specific etiological cause of the particular lesions as a function of the phase of the disease, permitting the establishment of the lesions chronology. Additionally, it meets the desired requirements previously mentioned which are to offer an immediate diagnosis in living animals, providing information about the acute and chronic phases of the disease.

Based on the above, the general aim of the experimental work corresponding to this Doctoral Thesis was to reduce the negative impact of the BRD in the calves' feedlots through the implementation of valid diagnostic techniques in order to early detect the animals with a higher risk to suffer from BRD within the herd (rectal temperature and its cut-off point to detect animals under risk) and through the accurate etiological diagnosis at individual level describing the pulmonary pattern in vivo (application of the diagnostic thoracoscopy and the thoracoscopic biopsy).

The first chapter of this Doctoral Thesis aimed to determine the body temperature cut-off point for the detection of calves under high risk of suffering from BRD when entering the feedlot, as well as to validate such cut-off point through the application of the partial metaphylaxis through the evaluation of the posterior disease outcome in the commercial feedlots.

This experimental phase served to demonstrate that, among all the evaluated clinical signs, only the rectal temperature, with a cut-off point of  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$ , had a significant diagnostic value ( $P=0.02$ ) to predict future cases of BRD and, therefore, detect calves under a high risk of suffering from BRD when entering the feedlot in posterior phases, with a sensitivity of 92% and an specificity of 20%.

Furthermore, we demonstrated that with the application of a rectal temperature cut-off point of  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$  used as a reference for the selective metaphylaxis with antibiotics at the entrance of the feedlot, the same productive results are reached in comparison with total metaphylaxis (same average daily weight gain, conversion rate and dressing percentage and similar incidence of BRD (24.6 vs. 31.3%), relapses (21.4 vs. 31.3%) and percentage of lungs with pneumonic lesions (38.6% vs. 36.4%).

Based on these results, we may establish a protocol to minimize the disease and use of antibiotics simultaneously and, at the same time, detect the group of animals with a higher risk of suffering from the disease.

In these terms and assuming that, in spite of these measures and due to the characteristics of the BRD, there always will be a percentage of diseased animals, the third and fourth chapters of this Doctoral Thesis are dedicated to the development of an efficient diagnostic technique applicable to diseased calves suffering from BRD.

In the second chapter, we set the aim of demonstrating the suitability and harmlessness of the thoroscopic technique for the diagnosis of the BRD in diseased calves under field conditions, as well as determining the optimal protocol for the thoroscopic technique of pulmonary examination in these situations.

With this experimental phase, we demonstrate for the first time the utility of the thoracoscopy as an easy diagnostic technique, safe and fast, which may be applied to diseased calves suffering from BRD under field conditions and with clear advantages in comparison with other exploratory methods. We explore the use of different types of equipment, approaches and exploratory techniques considering the animals' welfare during and after the procedures, the diagnostic information obtained and the ease of application. Based on the results, we determine how ideal the use of flexible endoscopes is in standing animals inserting the optic through the

upper third of the right hemi-thorax approach, between the intercostal spaces four and six, starting from the posterior part, without the need of extracting intrathoracic air or insufflating CO<sub>2</sub>.

This technique allowed the full exploration of the lungs in 15 minutes and the differentiation of the chronic and acute pulmonary lesions, as well as the observation of the adhesions in living calves with BRD, without risk for the animals' welfare or health of the calves.

Based on these results, we decided to optimize the potential of the thoracoscopic technique as a diagnostic and prognostic tool by combining the thorax exploration in diseased calves suffering from BRD with the pulmonary samples collection as the potential sample for the etiological and histopathological diagnosis.

In order to do this, we developed the experimental phase explained in the third chapter of this Doctoral Thesis, where the aims were the evaluation of the quality of the pulmonary samples obtained through biopsy with the thoracoscopic equipment and the influence of specific factors over the quality of such obtained samples, as well as the determination of the optimal protocol for the pulmonary biopsy. In the first instance, the work was developed in postmortem lungs and then in calves suffering from BRD under field conditions.

Through this experimental phase, it was possible to obtain at least a valid sample per animal of 100% of the sampled animals for its diagnosis (first phase in postmortem lungs and then in vivo), obtaining better results in the postmortem sampling (91.25%; 73/80) than in the living calves (46.67%; 7/15).

In the bovine, the thickness of the visceral pleura in the caudal lobes was bigger compared to the thickness in the cranial lobes. The breed and age of the calves did not significantly influence the size of the pleura, but a significant tendency to a larger pleural thickness was observed in males vs. females and a larger pleural surface from the sample in the animals of  $\geq 250$  Kg. The specific factors determining the validity of the samples and the percentage of valid samples obtained through thoracoscopic biopsy in the bovine were the thickness of the visceral pleura and the surface of the pulmonary parenchyma, the existence or non-existence of complete adhesions, the pulmonary lobe (cranial vs. caudal), the live weight of the animals (higher or lower than 250 Kg), gender and expertise of the endoscopists.

The macroscopic estimation of the pulmonary tissue based on the pinkish speckled appearance of the sample performed by the endoscopist resulted to be useful to foresee the actual existence of pulmonary tissue in the biopsy (Se=97.2%; Es=71.4X%; k value=0.687 and  $P<0.0001$ ), which has a great practical value as it allows deciding intraoperatively if the repetition of the biopsy is necessary.

In this way, it was determined that the optimal protocol of pulmonary biopsy through thoracoscopy in feedlot calves under field conditions must be based on the performance of biopsies in animals without complete adherences, in the collection of samples from the cranial lobes and in the selection of samples showing a pinkish speckled appearance which is macroscopically noticeable in order to reach the highest probability to obtain valid samples for further laboratory diagnostic analyses.

Once the optimal protocol for the thoracoscopic biopsy was established and the diagnostic potential of the biopsy samples obtained through this method was demonstrated, we developed the last experimental phase of this Doctoral Thesis, explained in the fourth chapter, where the aim was to evaluate the actual diagnostic global capacity of the thoracoscopy under these conditions comparing it with other diagnostic techniques more or less routinely applied in the field, and with other techniques of fluid and tissue samples extraction, also more or less routinely applied in the case of calves suffering from BRD.

In this last study, we demonstrated the existence of a high correlation between the obtained information through thoracoscopic examination and the information obtained through ultrasound and via necropsy. Additionally, the thoracoscopy allowed the immediate differentiation between acute and chronic processes in the living animal, providing a presumptive diagnosis of the specific and/or predominant etiological agent and a more accurate prognosis in comparison with the ultrasound examination and the clinical exploration. On the other hand, we demonstrated the high diagnostic utility of the pulmonary biopsy through thoracoscopy *in vivo*, providing complete and descriptive information about the characteristics of the lesion and the causal agent, also in the case of difficult diagnosis bacteria, with better results than the analytical techniques applied on other types of biological samples routinely collected for the diagnosis of BRD (bronchial alveolar lavage, nasopharyngeal swab, blood samples); and also confirming its safe, ease and fast performance in diseased calves with BRD.



In accordance with the results described in the four chapters of this Doctoral Thesis, we believe that these diagnostic and management measures would result in a lower number of antibiotic treatments, both at the individual and herd levels, and thus in a more efficient and responsible use of the antibiotics, as well as in a better productive efficiency of the feedlots.

Finally, due to the possibility of performing sequential studies on the same animal, the methodology of the pulmonary thoracoscopy represents a very interesting tool not only for the diagnostic and prognostic in diseased animals in the commercial feedlots, but also to show the pathogenesis and the evolution of the lesions and as a support for preclinical studies, clinical trials and pharmacovigilance, as well as to provide information about the antibiotic concentration in different pulmonary areas in living animals and in different stages of the disease.

## **INTRODUCCIÓN**



## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la carne de vacuno constituye una de las fuentes de proteína animal de mayor interés en todo el mundo, con un papel muy importante en la alimentación humana desde un punto de vista nutricional (Varela y Fundación Española de la Nutrición, 2001). Es conocido que estados de enfermedad suponen un detrimento en el bienestar y la salud, aspectos de gran actualidad y peso para la sociedad y los consumidores y que afectan directamente al consumo y, por ende, a la eficiencia económica de las explotaciones (Mazzochi, 2011). Por otro lado, y en el caso del bovino de aptitud cárnica, a su vez influyen de manera definitiva en la calidad de la carne (FAO, 2015a), lo que acentúa aún más la relevancia de los procesos patológicos y los detalles de su implicación en el proceso productivo.

### 1.1. **IMPORTANCIA DEL GANADO VACUNO DE CARNE Y CEBO**

Las fuentes más frecuentes de suministro de carne son diferentes especies de animales domésticos (tabla 1), entre las que se encuentra el ganado vacuno (FAO, 2015). Dentro de éste, encontramos animales de diferentes aptitudes (aptitud láctea, cárnica y mixta), pero la aptitud que más interesa en la industria de la producción cárnica es la que tiene como principal objetivo la producción de carne (como producto final y no como un subproducto cárnico), es decir, el ganado de razas seleccionadas para carne y especialmente el de cebo.

#### 1.1.1. **Importancia de la producción de carne en el mundo**

La importancia del ganado de carne y cebo a nivel mundial viene derivada de su elevada demanda y consumo. La carne de mayor **consumo** a nivel mundial es la de cerdo, con un 36 % de la ingesta mundial de carne, seguida de la carne de aves de corral y de vacuno, con aproximadamente un 35 y un 22 %, respectivamente (FAO, 2015).

El consumo de las diferentes especies animales varía también en función de preferencias culturales y creencias religiosas, además del estado de desarrollo industrial de los países y regiones. Mientras que el consumo de carne per cápita en algunos países industrializados es muy alto, en general, en los países en desarrollo el consumo per cápita de carne suele ser inferior a 10 kg (lo que además, se considera insuficiente y con frecuencia causa de malnutrición). Así, una aceleración en el desarrollo de países especialmente poblados trae consigo una elevación drástica de la demanda de carne a nivel mundial.

**Tabla 1.** Panorama del mercado mundial de la carne, años 2012-2013 y pronósticos para 2014. Perspectivas alimentarias-análisis del mercado mundial (FAO, 2014).

Millones de toneladas				%
BALANZA MUNDIAL				
Producción	304,2	308,5	311,8	1,1
Carne de bovino	67,0	67,7	68,0	0,5
Carne de ave	105,4	107,0	108,7	1,6
Carne de cerdo	112,4	114,3	115,5	1,1
Carne de ovino	13,7	13,9	14,0	0,5
Comercio	29,7	30,9	31,3	1,4
Carne de bovino	8,0	9,1	9,4	3,5
Carne de ave	13,0	13,2	13,5	2,4
Carne de cerdo	7,5	7,4	7,2	-2,1
Carne de ovino	0,8	1,0	1,0	-3,7
INDICADORES DE LA OFERTA Y LA DEMANDA				
Consumo humano per cápita: (kg/año):				
Mundial	42,9	42,9	42,9	-0,1
Desarrollados	76,2	75,9	76,1	0,3
En desarrollo	33,5	33,7	33,7	0,0
ÍNDICE DE LA FAO PARA LOS PRECIOS DE LA CARNE				
	2012	2013	2014 abril a enero	Variación: de enero-abril 2014 a enero-abril 2013
	182	184	184	-1,0%

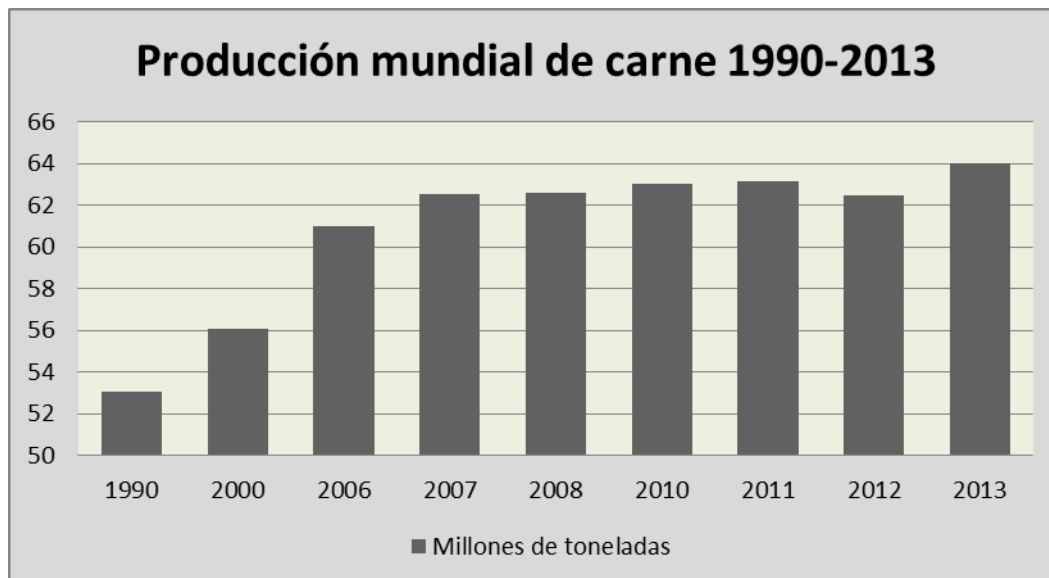
El principal productor y el país más importante en los mercados internacionales de carne de vacuno es Estados Unidos con cerca de un 20% de la producción mundial, seguido de países como Brasil, China, Argentina, Australia y Rusia (tabla 2).

**Tabla 2.** Principales productores mundiales de carne de vacuno, año 2010 (INFOCARNE, 2010).

Producción (%)	
Estados Unidos	18,7
Brasil	12,9
China	11,6
Argentina	5,0
Australia	3,6
Rusia	3,2
Otros	45,1

Para combatir de manera eficaz la malnutrición y la subnutrición, deben suministrarse 20 g de proteína animal per cápita/ día, o 7,3 kg per cápita/ año. El crecimiento demográfico constante y el aumento de los ingresos generan una mayor demanda de carne. Así pues, está previsto un aumento considerable en los próximos años debido

especialmente a la creciente demanda en países de continentes como Asia, muy poblados y con ritmos de crecimiento económico exponencial en algunos momentos (INFOCARNE, 2010). Por ello, cabe esperar un nuevo aumento drástico de la **producción** como la que se observó en el año 2000 y que se mantiene hasta el momento actual (figura 1).



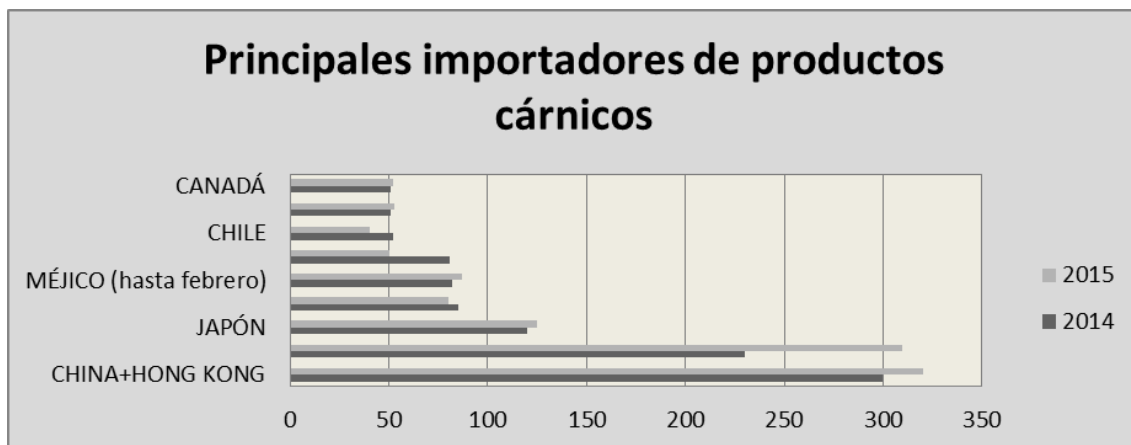
**Figura 1.** Producción mundial de carne en el periodo 1990-2013 expresado en millones de toneladas métricas de carne producida (Adaptado de “Cattle population worldwide 1990-2013,” 2015).

En este año 2000, la producción de carne en todo el mundo ascendió a alrededor de 56,07 millones de toneladas métricas. Este aumento de la producción se ha traducido en una elevación del **censo** de número de cabezas que, desde los años noventa hasta el año 2012, ha supuesto un incremento de más del 16% (tabla 3).

**Tabla 3.** Evolución del número estimado de cabezas de ganado vacuno (en millones) en el mundo, de 1990 a 2012 (FAO, 2015).

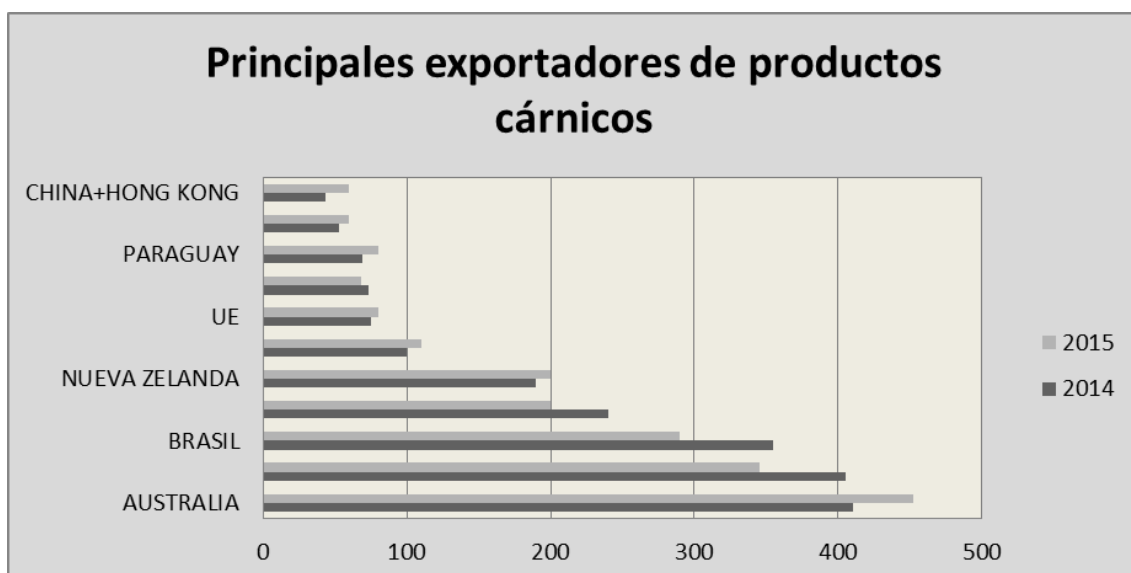
ESPECIE	1990	2000	2012	% Variación 1990-2012
BOVINOS	1445	1467	1684	16,5

Se estima que países como China puedan llegar a igualar la producción de Estados Unidos y Brasil (INFOCARNE, 2010), ya que en la actualidad son los mayores importadores a nivel mundial, como puede verse en la figura 2.



**Figura 2.** Principales importadores de carne a nivel mundial en 2014 y enero-marzo 2015 (Adaptado de CMO Committee, 2015).

Por otro lado, actualmente los países más exportadores de carne de vacuno y productos cárnicos son Australia y Estados Unidos, como se puede ver en la figura 3.



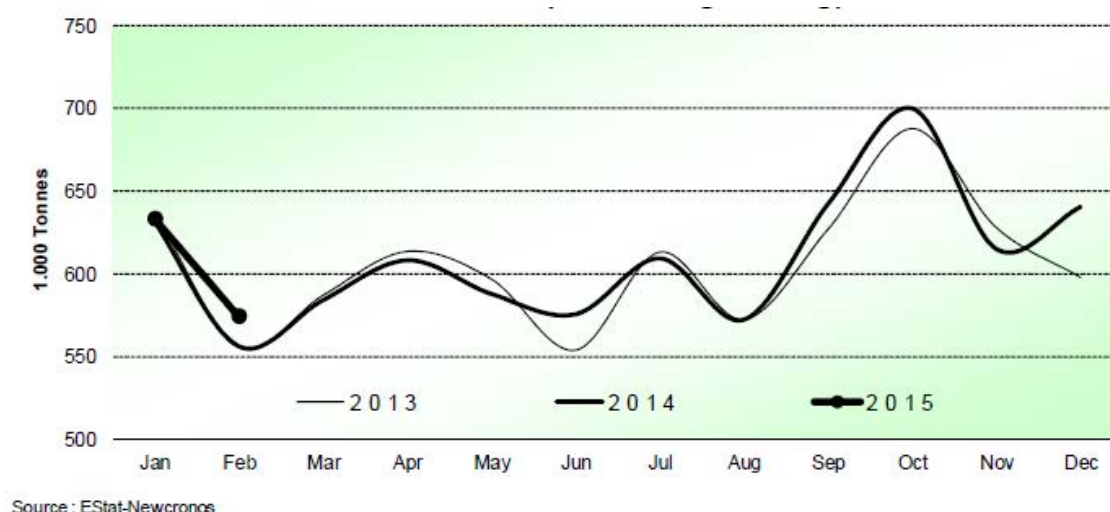
**Figura 3.** Principales exportadores de productos cárnicos a nivel mundial en 2014 y enero-marzo 2015 (Adaptado de CMO Committee, 2015).

Se estima que las **exportaciones** de carne de vacuno podrían crecer en un 15-30% en los próximos años, aunque se prevé que todos los países que juegan un papel importante en el mercado mundial de la carne de vacuno aumentarán igualmente sus **importaciones**, ya que la demanda interna de carne en estos países seguirá aumentando y la oferta continuará restringida (Adaptado de CMO Committee, 2015).

### 1.1.2.Importancia de la producción de carne en la Unión Europea

Los consumidores de la Unión Europea (UE) comen cada año unos 35 millones de toneladas de diversos tipos de carne, lo que supone una media de aproximadamente 92 kg per cápita al año, además de 5 kg de despojos comestibles per cápita; de ellos, 44 kg son de carne de porcino, 20 kg son de vacuno y 23 kg son de aves de corral. El **consumo** de carne, en términos generales, se ha mantenido estable a lo largo de los últimos años; aunque las ventas de carne de vacuno se vieron muy afectadas a partir de 1996 por la crisis de la encefalitis espongiforme bovina (EEB), se ha recuperado tras la segunda crisis de 2000-2001 (Comisión Europea, 2005).

Actualmente, la **producción** de carne se cifra en alrededor de ocho millones de toneladas, correspondiendo el 65% a Francia, Alemania, Italia y Reino Unido (CMO Committee, 2015). La producción de carne y terneros ha mostrado un aumento durante el presente año, como se aprecia en la figura 4.



**Figura 4.** Producción de carne y terneros en Europa en toneladas en los años 2013-2015 (CMO Committee, 2015).

Actualmente, los principales países exportadores de bovinos vivos son Alemania y Francia (tabla 4), siendo Italia el principal importador de terneros para cebo (tabla 5).

**Tabla 4:** Principales países exportadores de carne de vacuno año 2010 (INFOCARNE, 2010).

Exportaciones (%)	
Alemania	20,1
Francia	15,1
Países Bajos	11,0
España	8,2
Bélgica	6,6
Ucrania	6,2
Otros	32,9

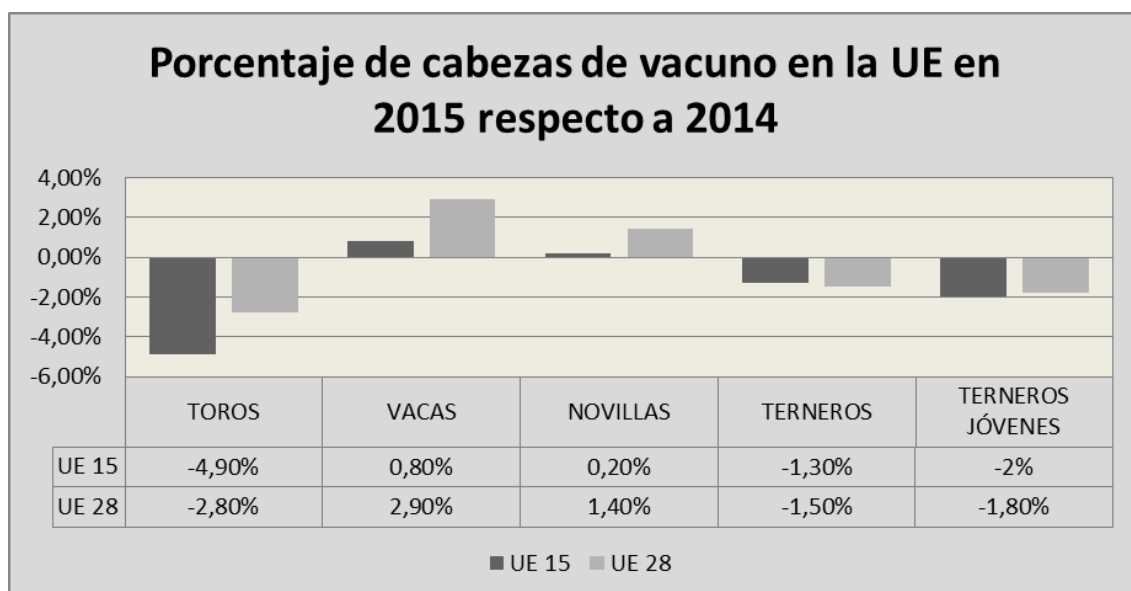


**Tabla 5:** Principales países importadores de carne de vacuno año 2010 (INFOCARNE, 2010).

Importaciones (%)	
Italia	18,7
Rusia	12,9
Francia	9,7
Países Bajos	7,6
Reino Unido	5,9
Grecia	4,8
Otros	40,4

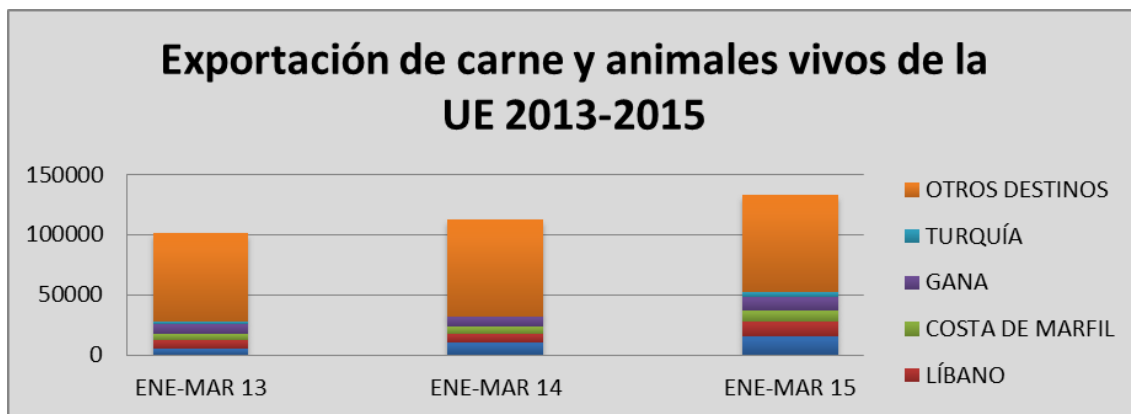
En lo que respecta al mantenimiento y comercio con bovinos vivos, el **censo** de vacas de la Unión Europea es de aproximadamente 34 millones, de las cuales el 35% son de vacas de razas de aptitud cárnica (CMO Committee, 2015).

Como se puede apreciar en la figura 5, el porcentaje de cabezas desde 2014 se mantiene estable, con ligeras variaciones cuando lo analizamos por categorías de tipos de animales.

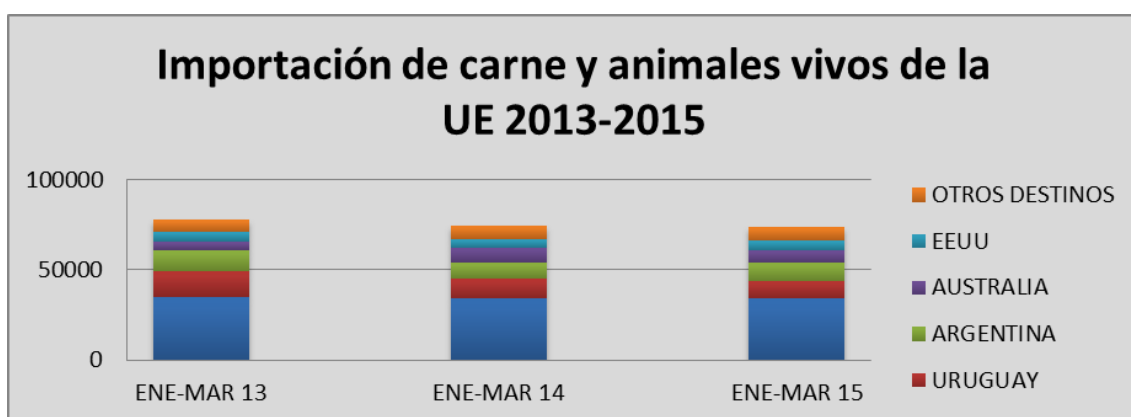


**Figura 5.** Porcentaje de cabezas de vacuno en Europa (Europa de los 15 y de los 28) por categorías, en 2015 respecto a las de 2014 (Adaptado de CMO Committee, 2015).

Por último, cabe destacar que la **exportación** desde la UE de carne y de animales productores de carne vivos ha aumentado de manera importante durante estos últimos años 2013-2015 (figura 6), mientras que las **importaciones** han ido también aumentando, pero de un modo más progresivo y discreto (figura 7).



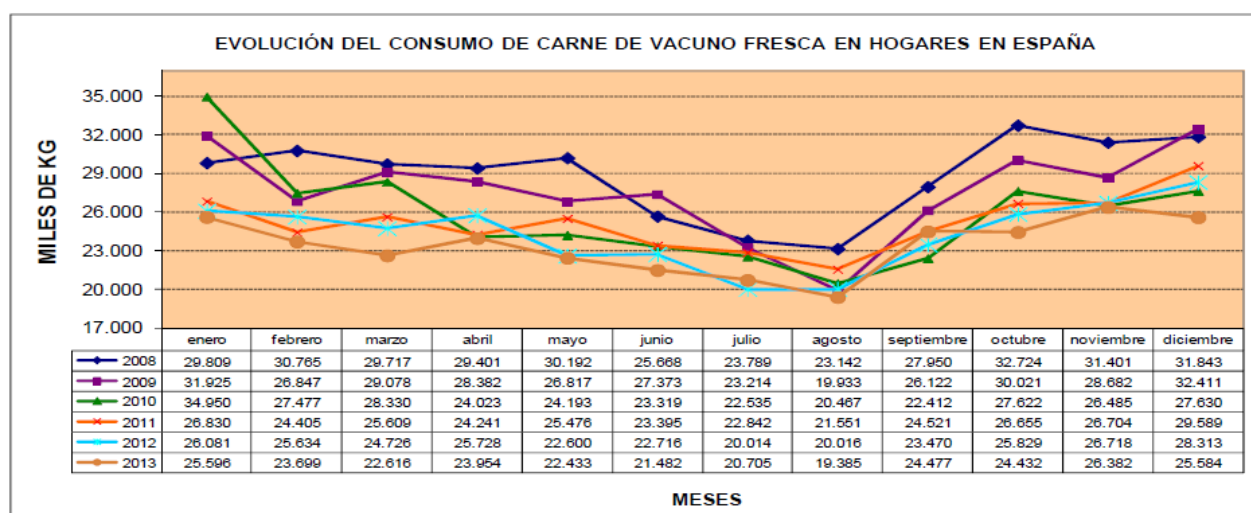
**Figura 6.** Exportación de carne y animales vivos de la UE, periodo 2013-2014 (Adaptado de CMO Committee, 2015).



**Figura 7.** Importación de carne y animales vivos de la UE, periodo 2013-2014 (Adaptado de CMO Committee, 2015).

### 1.1.3. Importancia de la carne y el cebo de bovino en España

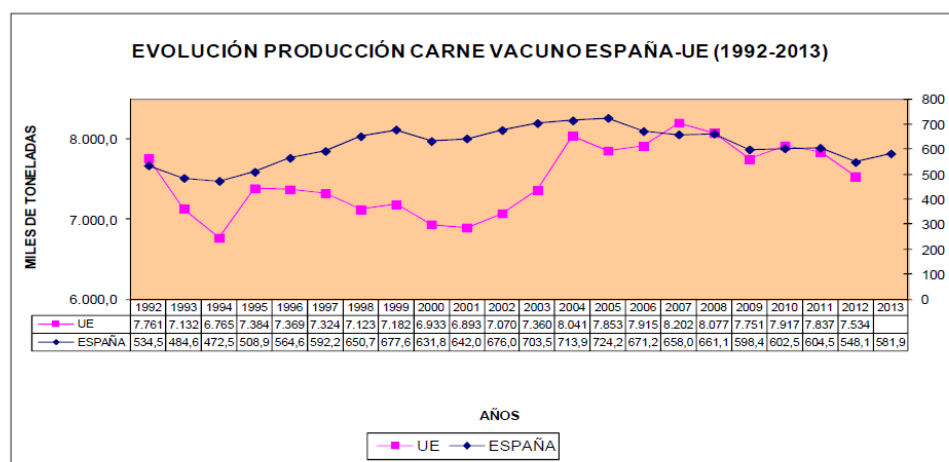
En España, el **consumo** de carne de vacuno por habitante y año es de 11 kg; o que constituye el consumo más bajo de la Unión Europea. Según los últimos datos disponibles (MAGRAMA, 2013), el consumo alimentario en hogares de carne de vacuno oscila en función de los años y los meses tal y como se observa en la figura 8, con cifras de consumo de carne fresca de un 3,8% inferior a la registrada en 2012, consumiéndose en torno a 280.745 toneladas.



Fuente: Panel de Consumo Alimentario

**Figura 8.** Evolución del consumo de carne de vacuno en España durante el periodo 2008-2013 (MAGRAMA, 2013).

La **producción de carne** de vacuno en España sigue una trayectoria muy estable, como se observa en la figura 9, con un descenso en los últimos años, casi paralelo al global de la UE.



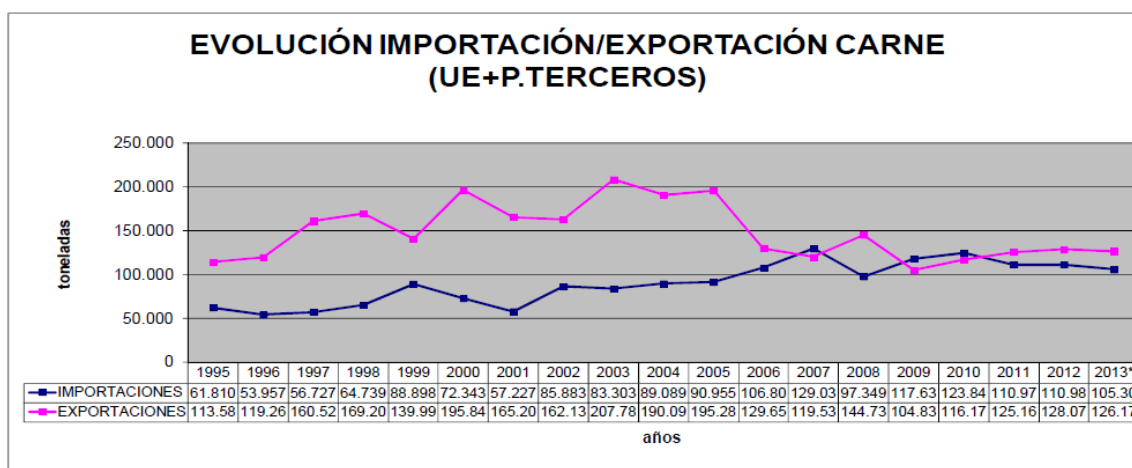
FUENTE: EUROSTAT Y SGT MARM

Elaboración: S.G de Productos Ganaderos

\*Datos provisionales (España a noviembre 2012). Los datos de la UE no están disponibles.

**Figura 9.** Evolución de la producción de carne de vacuno en España en los últimos 20 años (MAGRAMA, 2013).

En relación al comercio exterior de carne de vacuno, casi el 21,6% de la carne producida se comercializa fuera de nuestras fronteras; cifra que ha aumentado desde el año 2010, situándose actualmente las **exportaciones** de carne de bovino en nuestro país por encima de las **importaciones** (MAGRAMA, 2013), como se aprecia en la figura 10. Por otro lado, el país donde se exporta carne en mayor medida es Portugal, seguido de Francia e Italia, aunque en mucho menor medida (figura 11).

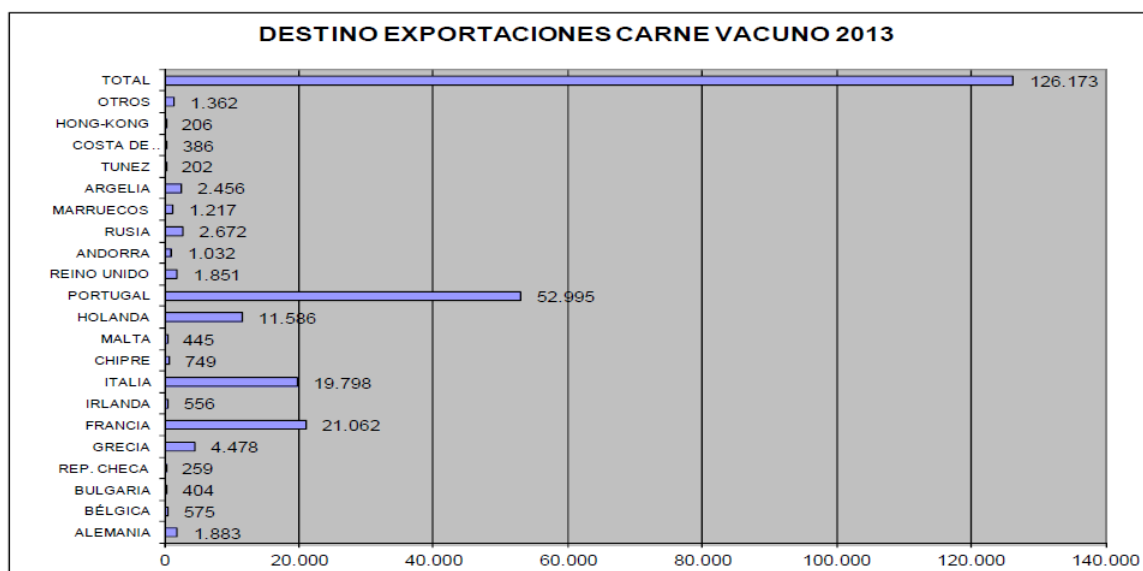


\*2013 Datos provisionales

Fuente: Datacomex

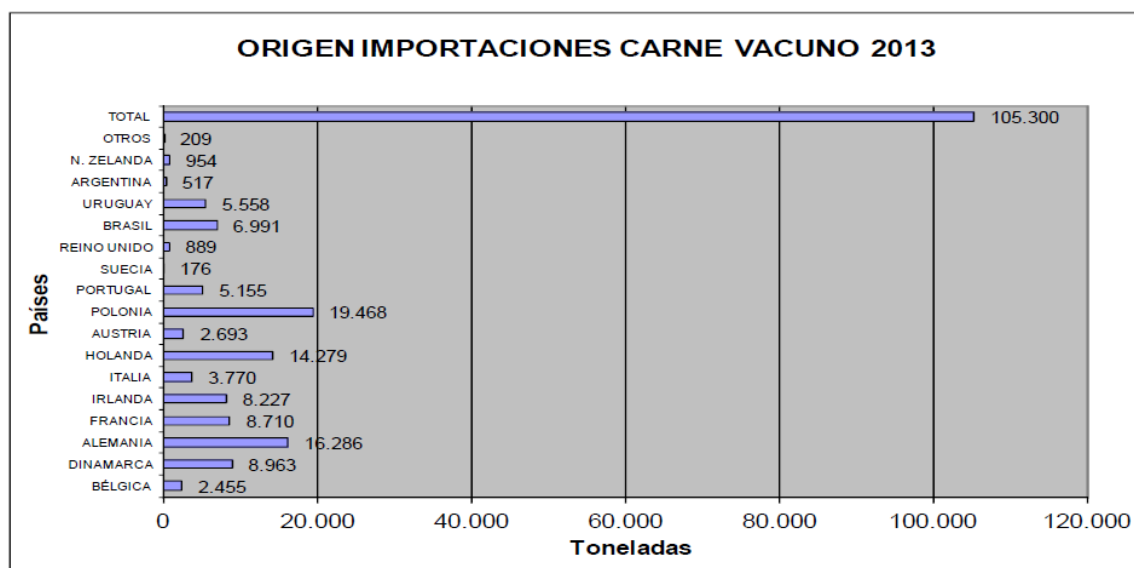
Elaboración: SG Productos Ganaderos

**Figura 10.** Evolución de las importaciones y exportaciones de carne de vacuno en España durante los últimos 20 años (MAGRAMA, 2013).



**Figura 11.** Destino de las exportaciones de carne de vacuno en España, año 2013 (MAGRAMA, 2013).

En el año 2013, el total de las **importaciones** de carne de vacuno a nuestro país procedente de otros Estados miembros y de terceros países alcanzó 105.300 toneladas, lo que supone un descenso global del 5,12% respecto al año 2012 (afectando principalmente a las importaciones comunitarias). El principal país de origen de las importaciones es Polonia, como se aprecia en la figura 12.



**Figura 12.** Origen de las importaciones de carne de vacuno en España (MAGRAMA, 2013).

Por otro lado, para comprender la evolución del **sector de vacuno de carne en España**, hay que saber que está integrado por dos grandes subsectores: el de las vacas nodrizas y el del cebo que en España, a diferencia de la Europa húmeda (donde son frecuentes las explotaciones de ciclo cerrado), se dan en explotaciones diferentes y localizaciones geográficas normalmente alejadas (Acero Adámez *et al.*, 2009).

Las explotaciones de cebo son totalmente intensivas y, salvo en zonas concretas como pueda ser Galicia, no cuentan con superficies forrajeras; por ello la alimentación se realiza mayoritariamente con piensos compuestos en los que los cereales son mayoritarios (Acero Adámez *et al.*, 2009). Dentro del cebo podemos distinguir fundamentalmente entre el cebo de terneros mamones o pasteros y, menos frecuentemente en España, el de terneros de carne blanca.

El cebo de **terneros “mamones”** es una práctica frecuente en Europa, fundamentalmente debido a la necesidad de dar salida a los terneros machos provenientes de las granjas de leche, que se comportan como un subproducto en este tipo de ganadería. Es muy habitual que las granjas de origen donde nacen estos terneros no tengan infraestructura para la cría y cebo de estos animales, de modo que éstos se crían hasta el destete en cebaderos denominados “cebaderos de mamones”. Estos animales tienen unas características especiales, ya que son de engrasamiento precoz, presentando un menor porcentaje de músculo en la canal, menor ganancia media diaria (GMD), pero mayor velocidad de crecimiento de tejido adiposo y mayor capacidad de consumo. Todas estas características hacen que sean animales que se sacrifiquen con un menor peso, por lo que los rangos de rentabilidad son limitados, debiéndose maximizar la eficiencia productiva para obtener ganancias en este tipo de producción (Acero Adámez *et al.*, 2009). Este tipo de producción está principalmente concentrada en España en el área de Lleida-Huesca, donde existe un censo estable de cerca de 300.000 terneros que se sacrifican antes de los 12 meses. Uno de los

factores que facilita esta concentración es el hecho de que las comarcas de Lleida concentran el mayor número de explotaciones de vacuno de carne de Cataluña (unas 3.000 granjas), lo que facilita la recogida de estos animales (Mercolleida, 2015).

Cuando hablamos de **terneros “pasteros”** nos referimos a los animales que han sido criados con la madre, normalmente vacas de razas de aptitud cárnica y mantenidas en pastoreo, hasta un máximo de 6-7 meses de edad, momento en que son vendidos a explotaciones donde se lleva a cabo su cebo intensivo o “acabado” (Acero Adámez *et al.*, 2009). En este tipo de producción, muy importante en España, el momento del sacrificio de los animales es crucial a la hora de plantear la alimentación de los mismos y acotar la rentabilidad del proceso (Blas *et al.*, 2008). En esta decisión influye, por un lado, el sexo de los animales (ya que las hembras engrasan antes y su sacrificio ha de ser anterior al de los machos) y, por otro lado la raza o el cruce, en función de si se trata de razas precoces o no (Bacha, 2005).

La producción de **terneros de “carne blanca”** está especializada en la cría de terneros de diferentes razas y orígenes, especialmente machos, con una dieta líquida de leche en polvo, de bajo contenido en hierro (Pardon *et al.*, 2012). El objetivo de este sistema es obtener terneros de carne pálida, de unos 250 kg de peso vivo, con aproximadamente 8 meses de edad (EUROSTAT, 2014).

La producción europea de este tipo de carne está cerca de los 6 millones de terneros al año, siendo Francia, los Países Bajos, Italia y Bélgica los principales productores (EUROSTAT, 2014). En Estados Unidos, la industria de carne blanca también tiene fuerte representación contando con aproximadamente mil millones de dólares anuales (Brscic *et al.*, 2012). En algunos estados de Estados Unidos, los terneros aún son mantenidos atados en plazas individuales a lo largo de todo el ciclo productivo, lo que en Europa ya está prohibido desde las Directivas 91/629/CE y 97/2/CE de 1991. En Europa se exige que los animales en este tipo de producción se alojen en casetas individuales durante las primeras 6 semanas de vida, para pasar posteriormente a grupos de entre 2 a 8 animales en parques de suelo emparrillado. No obstante, este tipo de producción es muy criticada por la sociedad, tanto por el manejo (la alimentación en condiciones fisiológicas, en terneros de más de 3 meses de edad, no debiera ser exclusivamente leche), como por el uso excesivo de antimicrobianos metafilácticos, especialmente antibióticos orales. Finalmente, este tipo de producción de carne blanca se puede dividir en tres variedades en función de la raza, organización y manejo nutricional: producción de terneros de leche, terneros de carne (frecuentemente de raza azul belga), y terneros provenientes de cruces de razas cárnicas (RSPCA, 2008). En cualquier caso, este sistema es el menos prevalente en nuestro país; igualmente que la demanda de este tipo de carne, suponiendo tan sólo alrededor del 15% de los animales sacrificados (Sañudo *et al.*, 2008a).

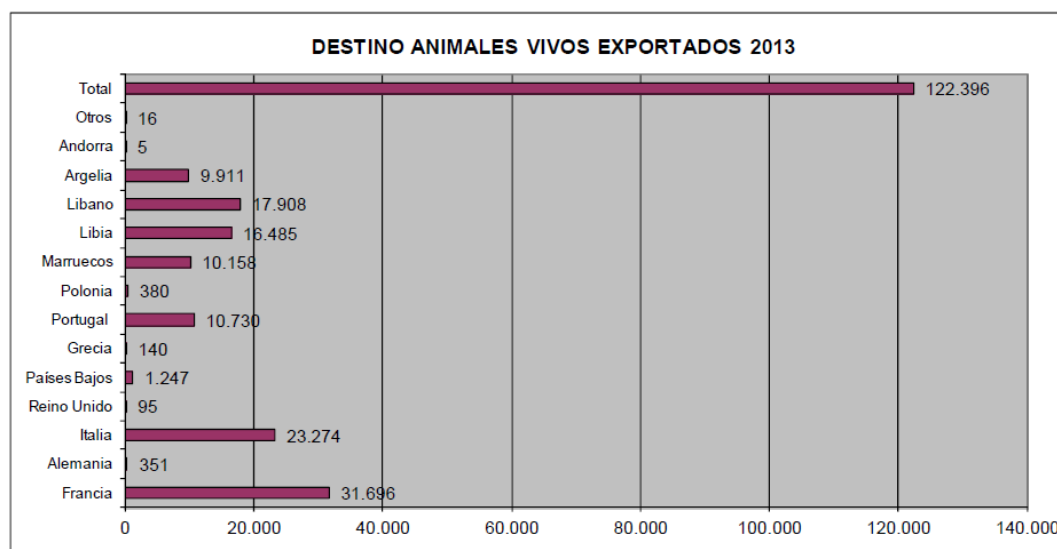
En 2013, en España, la **producción** global de vacuno de carne bajó notablemente en comparación con la estabilidad que se había ido observando en años previos. Así, el último dato disponible, de diciembre de 2013, indica que el número de animales sacrificados en 2013 alcanzó 2.219.731 cabezas, lo que supone un descenso del 3,87% respecto al año anterior. Este descenso se traduce igualmente en una bajada del número de toneladas producidas, que supuso un total de 581.857, un 2,51%

inferior a las registradas en el año 2012. Además, la relación peso/canal también cayó ligeramente (- 1,39%) respecto a 2012.

En cuanto al **censo** de animales por comunidades autónomas, según los últimos datos disponibles (MAGRAMA, 2013), el primer lugar en número de efectivos, lo ocupa la Comunidad Autónoma de Castilla y León (21%), seguido de Galicia (16%), Extremadura (13%), Cataluña (10%) y Andalucía (9%).

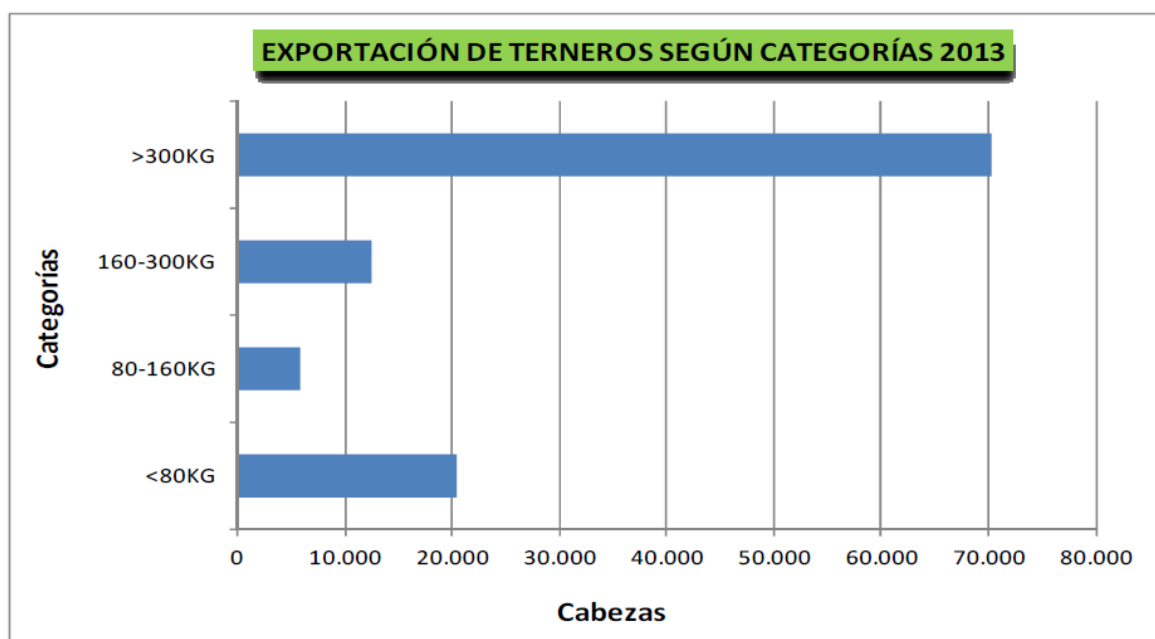
De forma tradicional, en España, el número de animales sacrificados de edad inferior a 8 meses es menor al del resto de países comunitarios, ya que apenas existe demanda de consumo de terneros de carne blanca. Asimismo, en nuestro país, el número de animales sacrificados en edades avanzadas o castrados es poco significativo (mientras que en algunos países de la UE supone hasta el 8% del total). Por este último motivo, el peso medio de las canales producidas en España es inferior al de la media del conjunto UE (MAGRAMA, 2013).

En los últimos años ha habido un auge de la **exportación de terneros** ya cebados pero vivos, para su sacrificio en destino, como es el caso de la mayor parte de la exportación a países como el Líbano, Libia o Argelia (figura 13), con grandes exportaciones de animales ya cebados (>300 kg), como se puede observar en la figura 14.



Fuente: Datacomex  
Elaboración: SG Productos Ganaderos

**Figura 13.** Destino del ganado de carne exportado vivo desde España durante 2013 (MAGRAMA, 2013).



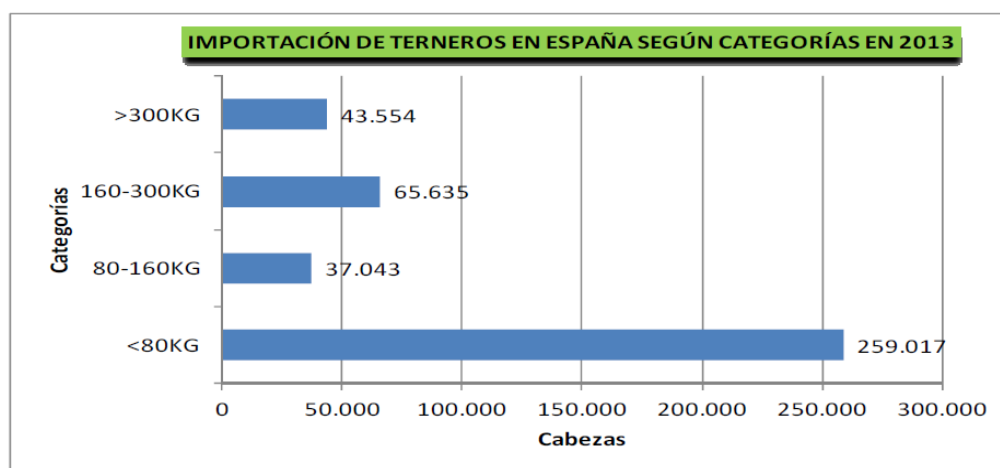
\* No incluye reproductores (13.377 cabezas)

Fuente: Datacomex

Elaboración: SG Productos Ganaderos

**Figura 14.** Exportación de terneros por categorías desde España (MAGRAMA, 2013).

En el caso concreto de los animales de engorde, los animales que más se han **importado** por categorías han sido los terneros menores de 80 kg, seguidos de los animales entre 160 y 300 kg (figura 15).



Fuente: Datacomex

Elaboración: SG Productos Ganaderos

\* No incluye reproductores (105.821 cabezas)

**Figura 15.** Importación de terneros en España por categorías (MAGRAMA, 2013).

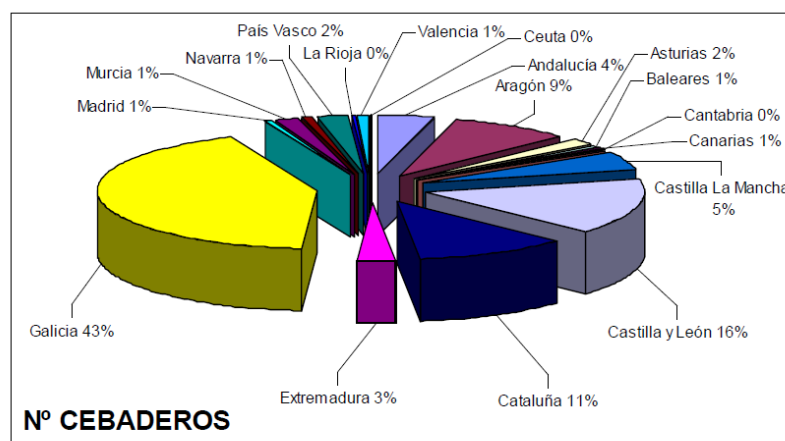
Como hemos señalado al describir los sistemas de producción de carne, el sector de producción de vacuno de carne en España presenta unas características muy distintas en función del tipo de producción: vaca nodriza o cebo. Tradicionalmente, ambas producciones se distribuyen en áreas geográficamente diferentes por razones agroclimáticas (clima y disponibilidad de pastos) y de tipo empresarial (ubicación de mataderos e industrias de transformación) (Acero Adámez *et al.*, 2009). También existe cierta influencia de las razas autóctonas en función de la comunidad autóctona, como se puede ver en la tabla 6.



**Tabla 6.** Distribución del censo por razas, por CCAA en 2011 (MAGRAMA, 2011).

COMUNIDADES AUTÓNOMAS	RAZAS CON MAYOR CENSO
Andalucía	Limusina (8,76%); frisona (5,36%)
Aragón	Frisona (37,43%); limusina (5,88%)
Asturias	Asturiana de los valles (64,89%); asturiana de la montaña (1,71%); frisona (1,71%)
Baleares	Frisona (27,05%); simmental (2,64%)
Canarias	Frisona (14,26%); simmental (10,99%)
Cantabria	Asturiana de los valles (16,26%); limusina (9,12%)
Castilla la Mancha	Limusina (8,7%); frisona (5,85%)
Castilla y León	Limusina (6,61%); limusina (5,83%)
Cataluña	Frisona (51,59%); simmental (5,94%)
Extremadura	Limusina (5,31%); frisona (1,99%)
Galicia	Frisona (8,84%); rubia gallega (7,91%)
Madrid	Limusina (7,71%); frisona (5,14%)
Murcia	Frisona (10,9%); limusina (9,6%)
Navarra	Frisona (19,75%); pirenaica (10,5%)
País Vasco	Limusina (14,2%); pirenaica (10,7%)
La Rioja	Frisona (49,62%); limusina (5,08%)
Valencia	Limusina (9,31%); frisona (6,9%)

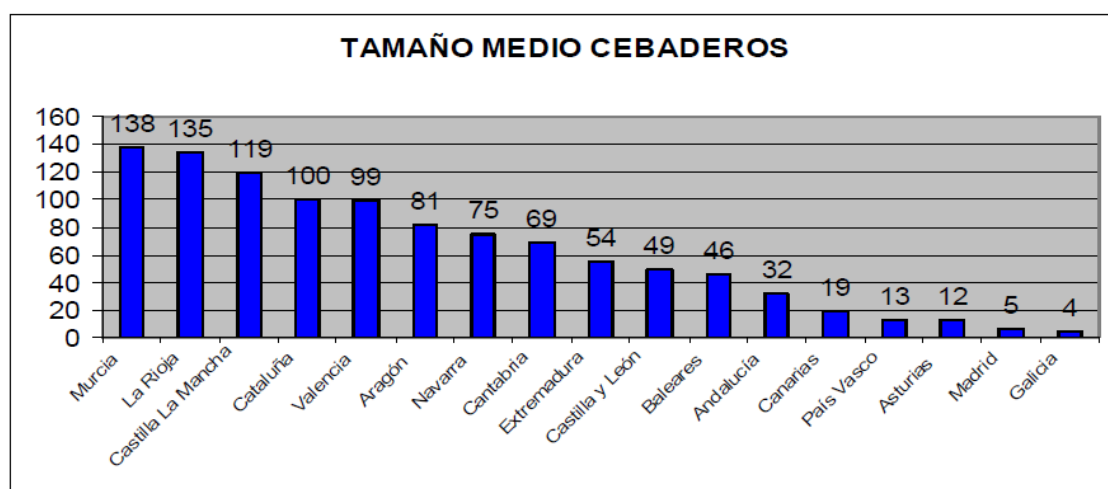
En el caso concreto del **cebo**, la concentración se produce en regiones cercanas a zonas de producción de cereal y grandes zonas de consumo como Cataluña, Madrid, Castilla y León y Galicia, que concentran el 60% de los sacrificios y que junto con Castilla La Mancha y Aragón, suponen más del 75% (MAGRAMA 2011), como se observa en la figura 16.



**Figura 16.** Distribución geográfica de las explotaciones de cebo, en España en 2011 (MAGRAMA, 2011).

Así pues, respecto a la distribución de los animales de cebo en nuestro país e independientemente del tipo de cebo, Cataluña presenta el mayor censo de bovinos en cebadero, con el 27% del total (276.137 animales), seguida de Castilla y León con un 18% (187.068 animales), Aragón con un 17% y Castilla La Mancha con un 15% del censo total.

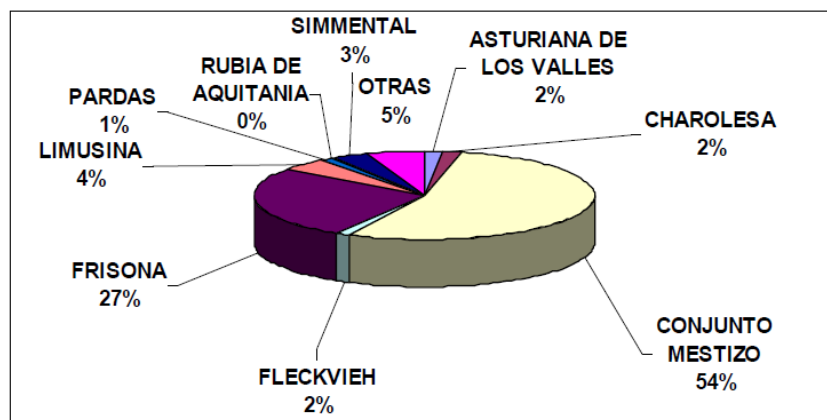
En España existen 24.566 cebaderos y 1.626.374 de animales en ellos (datos del último informe específico sobre el sector de cebo de terneros en España de 2011, del MAGRAMA). El mayor número de cebaderos se encuentra en Galicia aunque no es aquí donde está la mayoría de animales, puesto que el tamaño medio de los cebaderos de Galicia es de cuatro animales, es decir, muy pequeño (figura 17; MAGRAMA, 2011).



**Figura 17.** Tamaño medio de las explotaciones de cebo por CCAA en España en 2011 (MAGRAMA, 2011).

En cuanto a las características raciales de estos animales el 56% (869.967 animales) son de razas mestizas o cruces, el 25% de raza frisona (429.079), cebados especialmente en Cataluña, el 5% limusina (72.558), el 3% charolesa, simmental + fleckvieh con 3 y 2%, respectivamente, y un pequeño porcentaje de razas menos frecuentes como raza parda, asturiana de los valles, de la montaña y rubia de Aquitania (MAGRAMA, 2011), tal y como se aprecia en la figura 18.

**Figura 18.** Distribución del censo por razas (MAGRAMA, 2011).



#### **1.1.4.Relevancia de la aceptación social de los sistemas productivos actuales de producción de carne**

La ganadería desempeña múltiples roles en la sociedad, contribuyendo sustancial y directamente a la seguridad alimentaria y la salud de las personas (Thornton, 2010).

En el aspecto de la salud poblacional, la introducción en su dieta de pequeñas cantidades de productos de origen animal en el caso de poblaciones más desfavorecidas, y muy en particular en el caso de los niños, tiene importantes beneficios para su salud física y mental y su desarrollo adecuado (Neumann *et al.*, 2003). Además, la agricultura europea cuenta con apoyo económico para para potenciar la producción de bienes y servicios relacionados con los ecosistemas ganaderos (Deuffic y Candau, 2006), consiguiéndose con ello un importante aumento del turismo rural y el consecuente desarrollo económico-social de la región. Pero al mismo tiempo, aumentan las preocupaciones éticas respecto al consumo de productos pecuarios, cobrando mucha relevancia a nivel mundial corrientes como el vegetarianismo y veganismo. Estas tendencias preconizan aspectos negativos relativos al consumo de carne y otras proteínas animales, así como de la ganadería en sí misma, relativos a la falta de consideración del bienestar animal en los sistemas de producción, principalmente los de tipo intensivo, al abuso de antibióticos, de hormonas y problemas de salud en los animales productivos (Thornton, 2010).

En el aspecto ético, la investigación científica sobre el comportamiento animal ha presentado pruebas de las motivaciones y de las capacidades mentales de los animales que, por extensión, proporcionan un fuerte apoyo a la idea de la sensibilidad animal (es decir, la evidencia de que los animales tienen capacidad de percibir y sentir). Este conocimiento ha servido de base para el desarrollo de la legislación en bienestar animal de la UE, que consagra el concepto de la sensibilidad animal en la ley (Lawrence, 2008). En general, actualmente, las estrategias de los gobiernos europeos tienden a valerse de la legislación como mecanismo principal para fomentar mejoras en el bienestar de los animales de producción e impulsar medidas colectivas que impliquen a todos los interesados en este sector, incluidos los consumidores (Lawrence, 2009).

Existen pruebas contradictorias en cuanto a la posibilidad de agregar valor a los productos de origen animal a través de unas mayores exigencias de bienestar. Hay preguntas comunes sobre la solidez de las preferencias de los consumidores en relación con el bienestar; como, por ejemplo, alimentos orgánicos y locales, sobre todo en momentos de gran incertidumbre económica. Pero lo que sí es una realidad es la necesidad de efectuar un uso responsable de los antibióticos en producción animal, uniéndolo a las estrategias para reducir la proliferación general de bacterias con resistencias a antibióticos utilizados en medicina humana (Lubbers y Turnidge, 2015), ya que reducir el uso de antimicrobianos, en general, podría ayudar a reducir las antibiorresistencias (OIE-WHO-FAO, 2004; WHO, 2000).

Si bien existen leves diferencias entre los distintos países en relación con la legislación que regula el bienestar animal y el uso de antibióticos y hormonas en producción animal, estos temas son una preocupación cada vez más global (Trevisi *et al.*, 2014).

Mejorar el bienestar animal, y reducir el riesgo de enfermedad animal, reduciendo además el abuso de antibióticos, no debería penalizar los rendimientos empresariales y, de hecho, según algunos autores, puede favorecer incluso el aumento de las ganancias en los sistemas productivos (Thornton, 2010). La identificación de situaciones en las que el bienestar animal se puede mejorar, acompañado de un aumento de beneficios, y la cuantificación de estos compromisos, requiere marcos de evaluación integrados que analicen las complejas interrelaciones entre el bienestar animal, la gestión y el rendimiento (Lawrence y Stott, 2009). Entre estas situaciones en las que se relacionan directamente bienestar animal, salud animal y aplicación de antibióticos se encuentra la conveniencia de aplicar diagnósticos precoces que garanticen la detección de los procesos patológicos en fases iniciales, momentos en los que las tasas de curación son mayores por una mayor efectividad de los fármacos a aplicar en general (Encinas *et al.*, 2006; Morck *et al.*, 1993; Nickell y White, 2010; Schumann *et al.*, 1991, 1990).

En este contexto, describiremos una estrategia de manejo muy difundida en cebaderos, denominada como “metafilaxia”, que consiste en la aplicación sistemática de antibióticos al 100% de un colectivo animal con el objeto de evitar el padecimiento futuro de una determinada patología en base a un riesgo previo (Sweiger y Nichols, 2010). Con esta estrategia se pretende primar el bienestar animal minimizando la incidencia de enfermedad futura en el caso del ternero de cebo, concretamente del síndrome respiratorio bovino, pero asumiendo un “uso masivo” de antibióticos (Edwards, 2010). Si bien hay diversas evidencias científicas de la conveniencia de esta práctica (Booker *et al.*, 2007, 2006; Buczinski *et al.*, 2015a; Cusack, 2004; Edwards, 2010; Galyean *et al.*, 1995; Godinho *et al.*, 2005; Guichon *et al.*, 1993; Harland *et al.*, 1991; Ives y Richeson, 2015; Johnson *et al.*, 2008; Morck *et al.*, 1993; Nickell *et al.*, 2008; Regev-Shoshani *et al.*, 2015; Rooney *et al.*, 2005; Schumann *et al.*, 1991, 1990; Schunicht *et al.*, 2002; Step *et al.*, 2007; Van Donkersgoed, 1992; Vogel *et al.*, 1998), las premisas para su utilización que incluyen la definición de una “población de riesgo” son difícilmente objetivables, por lo que puede que en una proporción de casos elevada, la metafilaxia se aplique sin necesidad (Galyean *et al.*, 1995; Vogel *et al.*, 1998).

Específicamente, en el marco de la producción intensiva en el que nos encontramos, es fundamental el desarrollo de nuevas estrategias clínicas o diagnósticas que permitan la detección precoz de las enfermedades más prevalentes en el ganado, posibilitando así una mejora del bienestar animal y una reducción del uso de antibióticos, susciten un gran interés, no sólo científico sino también social.

## 1.2. IMPORTANCIA DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO EN EL GANADO DE CARNE Y CEBO

El *Síndrome Respiratorio Bovino* (SRB) es la enfermedad del ganado vacuno más estudiada desde finales del siglo XIX hasta el día de hoy (Taylor *et al.*, 2010a), y no por ello ha dejado de ser la enfermedad más devastadora en la industria del vacuno de cebo (Griffin, 1997). Antes de pasar a describir médicamente este proceso, abordaremos la repercusión que supone en los sistemas productivos de cebo, recién detallados en el capítulo anterior, por su importancia e impacto económico.

### 1.2.1. Relevancia económica del SRB en el ganado vacuno de carne

El SRB se considera la patología con mayor repercusión económica en la industria del bovino de carne, tanto en Estados Unidos como en Europa, pudiendo provocar casos y brotes agudos de neumonía en todos los sistemas y fases de producción (Ackermann *et al.*, 2010; Edward, 1996; Edwards, 2010; Smith, 1998).

A pesar de todos los avances conseguidos en los últimos años para combatir y controlar el SRB, varios estudios señalan que **la incidencia** de esta enfermedad se mantiene prácticamente estable en los últimos veinte años (Miles, 2009; Patrick, 2009), si bien es cierto que existe gran variabilidad en cuanto a datos de incidencia. Así, las cifras varían entre el 2 y el 39% en terneras de recría de leche (Gulliksen *et al.*, 2009; Van Donkersgoed *et al.*, 1991) y entre el 30-50% en ganado de cebo (Edwards, 2010; Smith, 1998), pudiendo alcanzar incluso el 80% en algunos sistemas productivos y bajo determinadas circunstancias (Ames, 1993).

Además, las pérdidas se acentúan porque los terneros tratados (y en teoría, curados) frente a SRB ven reducida su supervivencia futura y el crecimiento en comparación con sus compañeros de rebaño (Rossini, 2004; Stanton *et al.*, 2010), encontrándose cifras de **mortalidad** que oscilan del 5 al 20% entre los terneros afectados (Abutarbush *et al.*, 2012; Edward, 1996; Lonergan *et al.*, 2001). Pese a esta cifra tan variable, estudios de incidencia y costes asociados a la enfermedad en la industria norteamericana han verificado que la mortalidad debida a SRB mantiene un patrón anual más o menos estable a lo largo del tiempo; igual ocurre con el coste de los tratamientos, que a pesar de ser irregulares en un mismo año, mantienen la misma tendencia a lo largo de los años (Edwards, 2010; Stanton *et al.*, 2010; Wittum *et al.*, 1996).

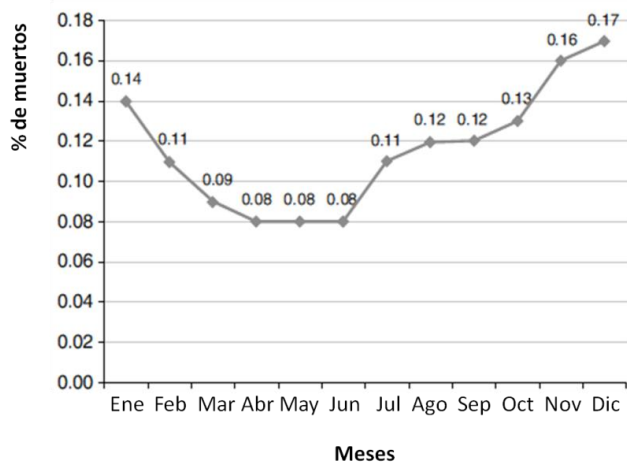
Sin embargo, determinar los **costes** exactos de la enfermedad es altamente complejo, ya que la cifra a calcular ha de incluir tanto los costes directos como los indirectos, y éstos siempre los tendremos asociados a los datos de morbilidad y mortalidad que, a su vez, muestran grandes variaciones, incluso entre explotaciones de una misma región.

En base a estos datos se puede afirmar que los costes derivados, tanto de programas preventivos como de los tratamientos esperados según las cifras de morbilidad,

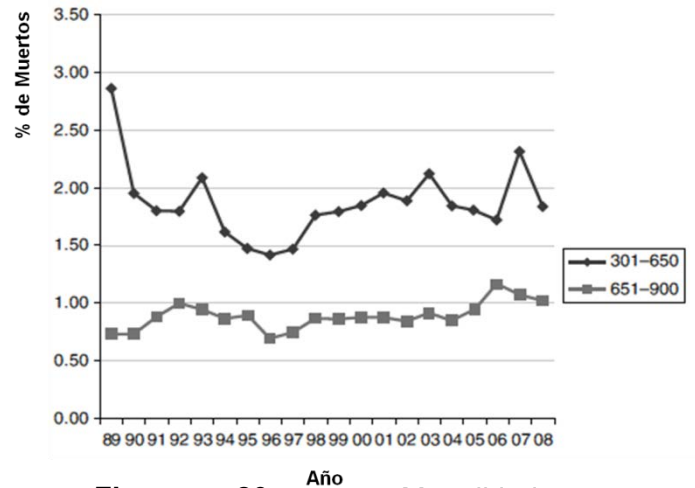
suponen unas **pérdidas directas** considerables, especialmente en las primeras fases del cebo (Brooks *et al.*, 2011), aunque la realidad es que el cálculo de costes varía enormemente en función del rebaño a estudiar y en función de sus condiciones de manejo (Apley, 2006).

Es la industria norteamericana la que más datos nos ofrece a este respecto. Ya en los años 90, Griffin (Griffin, 1997) estimó que los costes de esta enfermedad en el ganado de cebo suponían el 7% del total de los costes de producción desde el destete de los terneros hasta su venta para sacrificio. Un estudio más reciente reveló que la cifra del coste global puede superar los 500 millones de dólares anuales en Estados Unidos (Miles, 2009), basándose especialmente en los datos de mortalidad y en el gasto en tratamientos, como puede verse en las figuras 19-21.

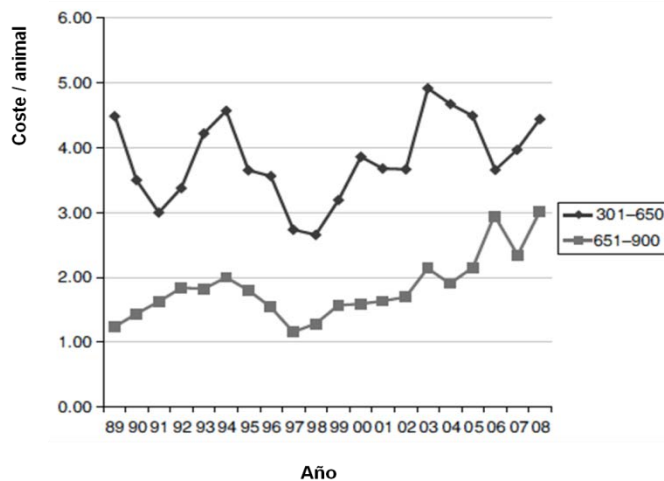
Entre las **pérdidas indirectas**, debemos asumir que la enfermedad respiratoria en las primeras etapas de la vida de los terneros, independientemente de su aptitud, tiene efectos significativos en el subsecuente crecimiento (por lo tanto, productividad), además de en su capacidad posterior de supervivencia, aumentando las pérdidas asociadas a estos detrimentos. Un diagnóstico de neumonía durante los primeros 6 meses de vida resulta en tasas de crecimiento más lentas y en disminución de la productividad (Griffin, 1997). Hay autores que valoran estas pérdidas productivas en un 7,2% de reducción de la ganancia de peso vivo final (Radostits *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2001), mientras que otros cuantifican la pérdida de producción alrededor de unos 13,90\$ por cada ternero, en un modelo de cebadero de 1.000 animales (Brooks *et al.*, 2011; Snowden, 2006). No obstante, también encontramos datos mucho más pesimistas de la industria del cebo de Estado Unidos, con unas estimaciones de pérdidas anuales alrededor del billón de dólares al contabilizar las pérdidas en la producción, el incremento de mano de obra, el coste de las medicinas y la mortalidad (Griffin *et al.*, 2010).



**Figura 19.** Mortalidad media por SRB por meses (periodo 1990-2008; Miles, 2009).



**Figura 20.** Mortalidad en bovino de cebo (periodo 1989-2008) en dos categorías de peso (301-650 y 651-900 libras, con equivalencia en kg de 136-294 y 295-408 kg; Miles, 2009).



**Figura 21.** Coste medio del tratamiento en vacuno de cebo (periodo 1989-2008) en dos categorías de peso (301-650 y 651-900 libras, con equivalencia en kg de 136-294 y 295-408 kg; Miles, 2009).

En líneas generales, esta enfermedad se da más frecuentemente durante el otoño y el invierno (figura 19), en terneras lecheras de recría jóvenes y en terneros recién llegados al cebadero, entre los seis y ocho meses de edad (los que llamamos pasteros), aunque puede afectar a todas las edades y sistemas de producción (Callan y Garry, 2002; Miles, 2009; Sañudo *et al.*, 2008).

Trabajando con **datos europeos**, concretamente holandeses, encontramos datos de estimaciones de las pérdidas ocasionadas por SRB, calculadas mediante modelos matemáticos aplicados a cálculos económicos, que se ajustan a cifras medias de entre 18 y 54€ por novilla de leche (en sistemas de recría) y datos estimados de unos 20€ por ternero de cebo (Pardon *et al.*, 2013).

El conjunto de estos datos permite afirmar con rotundidad que el SRB es, sin duda alguna, la enfermedad con mayor peso económico en colectividades de bovinos jóvenes de cebo en Europa (Wittum *et al.*, 1996), con pérdidas especialmente difíciles de cuantificar cuando se tienen en cuenta los tratamientos, la asistencia veterinaria, la aparición de animales recidivantes y los que denominamos “crónicos”, las bajas y la disminución de la producción.

### 1.2.2.Importancia del SRB en el cebo de terneros mamones

El SRB constituye la segunda patología más frecuente en terneros mamones, inmediatamente después de los procesos diarreicos (Radostits *et al.*, 2007). Las cifras, tanto de **morbilidad** como de **mortalidad** varían enormemente en función de los factores de riesgo: estrés asociado a transporte, prácticas de encalostrado deficitarias, mayor número de lugares diferentes de origen, etc., pudiéndose calificar un nivel aceptable de mortalidad hasta un 5% en sistemas con medidas de manejo adecuadas o por el contrario, siendo esperables mortalidades de incluso el 40% de los animales o cifras superiores en sistemas deficientes (Murray *et al.*, 2014).

Algunos datos estimados hablan de un **coste por caso** de SRB en este tipo de animales (terneros mamones) de hasta 70€, pudiendo alcanzar hasta los 180€ en caso de animales afectados de manera crónica (Donovan *et al.*, 1998); valor superior al precio final de venta de los animales en España (ASOPROVAC, 2015).

### 1.2.3.Importancia del SRB en el cebo de terneros pasteros

Está ampliamente documentado que el SRB es la principal causa de **morbilidad** (hasta un 70%-80%) y **mortalidad** (alcanzando incluso un 40%-50%) en los cebaderos de terneros pasteros (Edward, 1996; Loneragan *et al.*, 2001; Wittum *et al.*, 1996), constituyendo pérdidas económicas muy significativas en este sector (Edwards, 2010).

Dentro de las **consecuencias económicas** directas encontramos las pérdidas por mortalidad directamente atribuibles al proceso de SRB que, aunque no muy frecuentes, se deben sumar a importantes costes de tratamientos y medidas



preventivas para la minimización de la enfermedad (Snowder, 2006; Thiry *et al.*, 2014). Por ejemplo, según un estudio de 1999 del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, el 14,4% del ganado de engorde desarrolló SRB, con un coste medio de tratamiento de 12,59\$, aun con datos de mortalidad asociada a SRB de tan sólo 14,2 muertes por cada 1.000 (USDA, 1999). A estas cifras hay que sumar las de los protocolos profilácticos y metafilácticos que se aplican en la mayoría de las ocasiones. En un apartado posterior de este texto se explicará más en detalle en qué consiste la metafilaxia que ya citábamos anteriormente, pero brevemente puede definirse como la utilización sistemática de antibióticos con acción demostrada frente al SRB a todos los terneros en el momento de entrada en el cebadero, cuando el riesgo de padecer SRB es alto (Edwards, 2010).

Además, hay que añadir los costes indirectos tales como la disminución del índice de conversión y de la calidad de las canales. Como los costes varían en función del rebaño estudiado, es importante asociar los datos concretos de pérdidas productivas con datos concretos de incidencia de enfermedad. Por ejemplo, en un interesante trabajo de Smith (Smith, 2009), donde analizó la influencia de varios factores en el valor comercial del ganado bovino en Norteamérica a partir de 5.976 terneros de cebo, observó una incidencia de SRB del 8,17%, siendo la causa del 49% de las muertes. Con estos datos, verificó que el ganado que había sufrido SRB tenía un valor menor, entre 23,23 a 151,18\$, que los que permanecían sanos. Esta cifra incluye los costes asociados al aumento del trabajo veterinario, al menor índice de conversión, a la ralentización del crecimiento, al menor valor de las canales a la mayor mortalidad y a los sacrificios antes del momento ideal.

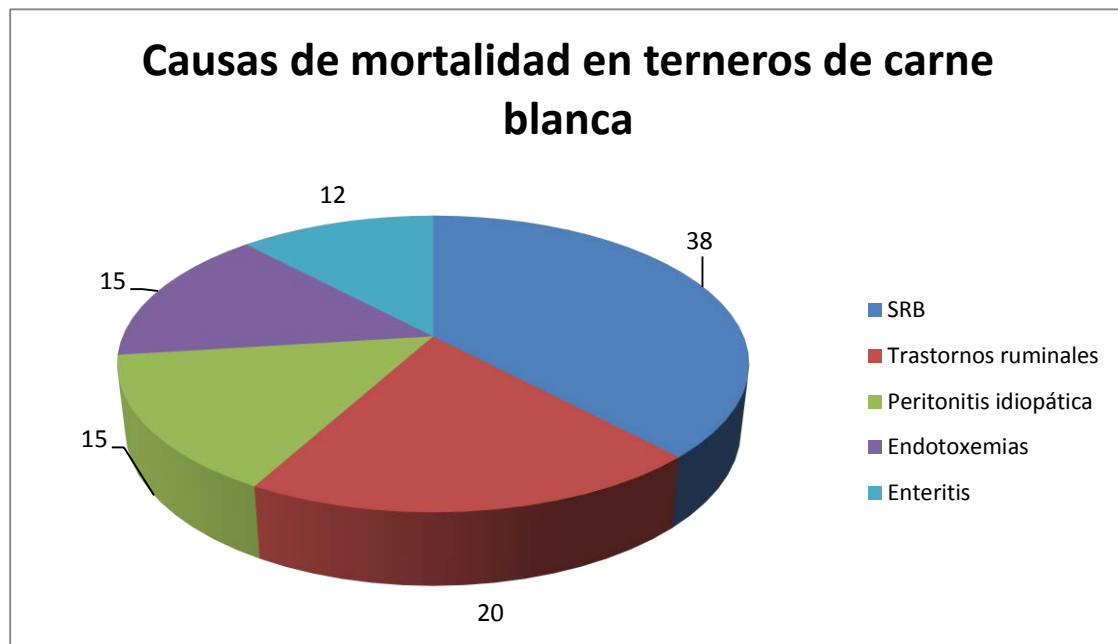
Finalmente, para poder hacer una estimación de costes que se acerque a la realidad, debemos considerar también el **número de tratamientos por animal** (Cernicchiaro *et al.*, 2013; Jim, 2009; Schneider *et al.*, 2009). Se estima que los productores pierden alrededor de 40\$ por ternero en el primer tratamiento, 58,35\$ en el segundo tratamiento y 291,93\$ por cada ternero con 3 o más tratamientos frente a SRB (Fulton, 2009; Griffin *et al.*, 2010), a lo que habría que añadir el coste que implican los animales con un padecimiento crónico de SRB (González-Martín y Pérez-Villalobos, 2015).

Por todo esto, esta enfermedad resulta de gran importancia en el ganado bovino de cebo de pasteros, exigiendo a ganaderos y veterinarios el desarrollo de estrategias de manejo y planes de comercialización adecuados a cada sistema y una toma de decisiones precoz y basada en criterios de rentabilidad y productividad, así como ajustados a un alto nivel de bienestar y con un uso responsable de antibióticos.

#### **1.2.4.Importancia del SRB en el cebo de terneros de carne blanca**

No existen demasiados estudios de **morbilidad** en este tipo de producciones y los que existen suelen representar únicamente a los terneros de leche dedicados a la producción de carne blanca. No obstante, Brscic (Brscic *et al.*, 2012) estudió el SRB en este tipo de producción y apuntó que en ninguno de los casos la prevalencia superaba el 7%.

Por otro lado, un estudio de Pardon (Pardon *et al.*, 2012) demostró que, en general, las neumonías son la primera causa de **mortalidad** en todos los sistemas de producción de carne blanca (figura 22), principalmente entre la segunda y la sexta semana después de su llegada, con datos de mortalidad del 5,7% antes de completar el ciclo productivo, de los cuales el 27,1% se debían a neumonía. Además, pudo ver que la mortalidad debida a SRB fue mayor en los sistemas de producción de carne blanca a partir de terneros de razas de carne (azul belga y cruces) en comparación con los terneros de leche.



**Figura 22.** Causas de mortalidad en terneros de carne blanca. Adaptado de Pardon *et al.*, 2012.

El elevado uso de los antimicrobianos en este tipo de producción ofrece datos de **costes** asociados a tratamientos de en torno a 7,5€ por tratamientos sistemáticos (a todo el grupo) orales y un coste medio de 50,9€ por tratamiento individual (Pardon *et al.*, 2013). Además de estos costes directos, los terneros que experimentan un episodio de SRB muestran una reducción en el peso vivo (con datos publicados de incluso 8,2 kg menos en comparación a terneros sanos), un menor engrasamiento y un aumento del riesgo de mortalidad (Bach *et al.*, 2011). Por otro lado, estos costes aumentan exponencialmente con el número de episodios de SRB por ternero (Griffin, 1997).

### 1.3. CARACTERIZACIÓN DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO

El SRB es una enfermedad que, como ya hemos comentado previamente, podemos encontrar en todos los tipos de producción bovina, aunque es en el ganado de cebo y muy especialmente en los terneros pasteros (Wittum TE *et al.*, 1996), donde tiene un mayor impacto y repercusión económica (McGuirk, 2008). Tanto la morbilidad como la mortalidad de esta patología nos muestran datos muy variables en función de la intensidad a la que sometemos a nuestros animales a los diferentes factores de estrés que desencadenan la enfermedad (Brscic *et al.*, 2012; Sanderson *et al.*, 2008).

#### 1.3.1. Etiopatogenia del SRB

La **etiología del SRB** es compleja, puesto que para que se llegue a producir el síndrome respiratorio bovino en los terneros, es necesario que acontezcan una serie de fenómenos ambientales y de manejo que faciliten el deterioro del sistema respiratorio e inmune del animal y lo predispongan para su colonización por una serie de gérmenes (Andrews y Kennedy, 1997), que son ubicuos en la propia población bovina (Nickell y White, 2010). Los principales factores predisponentes pueden agruparse en infecciones víricas, factores ambientales y de manejo, e incluso factores propios del animal tales como la predisposición genética (Taylor *et al.*, 2010a). Entre estos factores, el transporte, especialmente la distancia del lugar de origen hasta el cebadero y el número de orígenes de los animales transportados que se mezclan en el camión, se correlacionan directamente con la morbilidad de la enfermedad, mientras que otros factores de riesgo relacionados con el manejo son más dependientes del tamaño del cebadero (Sanderson *et al.*, 2008).

Pese a que los factores desencadenantes de la enfermedad son los factores ambientales y la madurez del sistema inmune del animal, existen una serie de bacterias con una especial relevancia en esta patología, como es el caso de la familia de las pasterelecias y *Mycoplasma bovis* (Taylor *et al.*, 2010a). Dentro de las pasterelecias, *Mannheimia haemolytica* es la bacteria aislada con mayor frecuencia en las neumonías de los terneros (Fulton *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2010a), aunque existe un aumento notable de otros patógenos emergentes (Gagea *et al.*, 2006a; Welsh *et al.*, 2004).

En cuanto a la **patogenia del SRB**, en primera instancia, los virus respiratorios desarrollan la lesión inicial mediante la alteración de la barrera mucociliar (con degeneración del epitelio y la pérdida de actividad del moco traqueobronquial), y la disminución de la actividad de los macrófagos alveolares (que provoca la multiplicación y colonización de los mismos; Ackermann *et al.*, 2010). A partir de este momento, bacterias como *Mannheimia haemolytica* (anteriormente denominada *Pasteurella multocida*), *Histophilus somni* (anteriormente *Haemophilus somnus*), *Trueperella pyogenes* (anteriormente *Arcanobacterium pyogenes*), *Mycoplasma bovis*, y más recientemente descrita, *Bibersteinia trehalosi* (anteriormente *Pasteurella trehalosi*), que forman parte de la flora nasofaríngea normal de los animales pueden

proliferar en el pulmón tras una situación de estrés o infección viral, produciendo neumonía (Pancier y Confer, 2010).

Por otro lado, el sistema de engorde acelerado aumenta las exigencias metabólicas, y favorece una mayor tendencia al agotamiento muscular por el aumento de la tasa metabólica, lo que permite, la colonización de las vías respiratorias altas por estos gérmenes (Stöber, 2005). Sumado a todo esto, la presencia del virus de la diarrea vírica bovina (DVB), aunque de leve tropismo respiratorio, desarrolla un importante papel como inmunosupresor (Campbell, 2004; Shahriar *et al.*, 2002; Stöber, 2005).

Así pues, los signos clínicos de SRB se observan típicamente en los terneros de cebo, entre siete y diez días después de un evento estresante, como por ejemplo, la entrada de estos animales al cebadero (Rice *et al.*, 2007) y se pueden observar hasta un máximo de 27 días después de la llegada (Duff y Galyean, 2007).

### **1.3.2. Cuadro clínico y lesiones del SRB**

El **cuadro clínico** puede variar, siendo desde prácticamente imperceptible hasta la presentación hiperaguda e incluso la muerte. Los síntomas más habituales son secreción nasal y ocular, depresión, anorexia, fiebre de hasta 42°C, aumento de la frecuencia respiratoria y tos húmeda (Griffin *et al.*, 2010). Por lo general, encontramos cuatro fases diferenciables de la enfermedad, que pueden estar presentes en un mismo momento dentro del rebaño y que también, suelen derivar unas en otras si no se establecen a tiempo las medidas correctoras y terapéuticas oportunas (Lekeux, 2006):

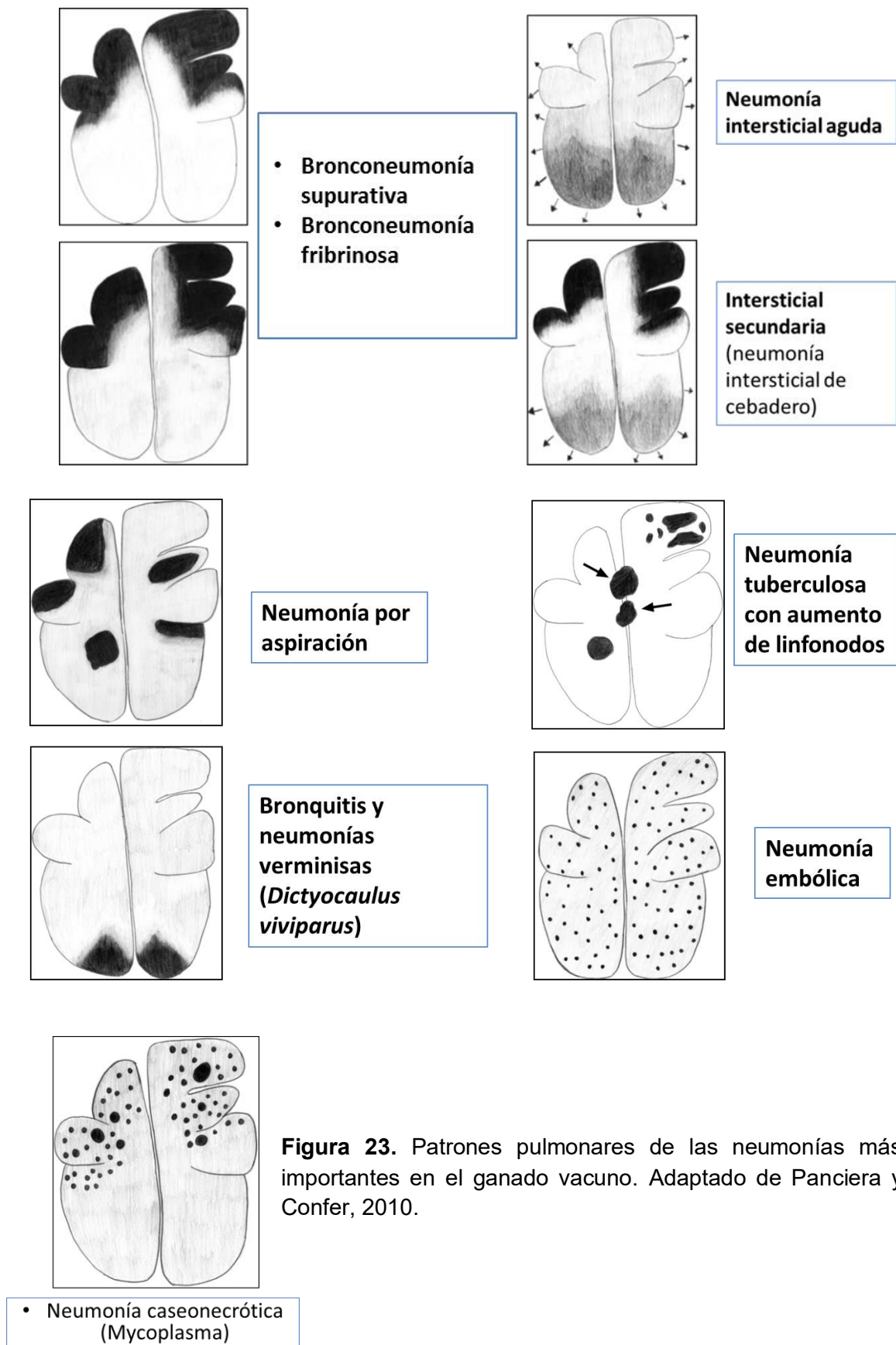
- **GRADO I O SUBCLÍNICO:** inicial o de curso leve. Se trata de una bronconeumonía catarral que puede llegar hasta intersticial, de origen vírico y escasa afectación del estado general del animal, que suele darse en los primeros momentos de la enfermedad, por lo que en general mejoran con rapidez tras la instauración precoz de tratamiento e incluso se llega a producir la curación espontánea únicamente con la mejora de las condiciones ambientales (Stöber, 2005). Autores como Lekeux (Lekeux, 2006) opinan que el animal en estas fases, es capaz de controlar por sí mismo los agentes patógenos, no siendo necesario intervenir.
- **GRADO II O ENFERMEDAD CLÍNICA COMPENSADA.** En esta fase se aprecia una sintomatología leve debido a que la reacción inflamatoria está aún controlada (Lekeux, 2006). Los signos típicos son: inapetencia, fiebre de moderada a intensa, descarga nasal de mucosa a purulenta, epífora, tos superficial y en algunas ocasiones, diarrea no muy intensa. De modo que la intervención con antibióticos es suficiente para favorecer el proceso de curación y controlar la enfermedad (Sañudo *et al.*, 2008).

- **GRADO III O ENFERMEDAD CLÍNICA DESCOMPENSADA.** Se trata de una fase de carácter grave, que se corresponde con la presencia de una neumonía secundaria de tipo fibrinosa, producto de la complicación de la anterior por medio de bacterias (Lekeux, 2006). La sintomatología es de carácter grave, observándose anorexia, depresión marcada, disnea intensa (generalmente de tipo inspiratorio que evoluciona a mixta), tos con mayor frecuencia que en las fases I y II, descarga nasal purulenta, postura ortopneica y dilatación de ollares (Sañudo *et al.*, 2008).
- **GRADO IV O ENFERMEDAD CLÍNICA IRREVERSIBLE.** Es el resultado de recidivas y/o de pautas inadecuadas de tratamiento, por ejemplo la subdosificación o la complicación con agentes piógenos (Sañudo 2008). Se trata de animales con padecimiento crónico de SRB, con el pelo erizado, que manifiestan disnea intensa y tos tras ejercicio leve e inadecuada condición corporal (McGuirk, 2008). Estos animales mejoran levemente tras la administración de antibioterapia prolongada pero recaen a los pocos días de retirarla, siendo económicamente desaconsejable su tratamiento (Gorden y Plummer, 2010).

En función del protagonismo de unos u otros agentes, tendremos diferentes **lesiones** y patrones lesionales pulmonares asociados (Panciera y Confer, 2010). Tal y como se observa en la figura 23, las neumonías bacterianas constan de diferentes patrones debido a sus diferentes agentes causales.

Las principales características de las neumonías reflejadas en los patrones de la figura 23 son las siguientes (Panciera y Confer, 2010; González-Martín y Pérez-Villalobos, 2015):

- **Neumonía intersticial:** las lesiones son generalmente leves en esta forma de neumonía y van desde áreas enrojecidas de atelectasia a exudados mucopurulentos con bullas enfisematosas en los lóbulos caudales.
- **Neumonía intersticial aguda:** tiene un patrón casi siempre de tipo difuso, en todo el pulmón aunque hay algunas variantes menos frecuentes. En la necropsia es habitual observar enfisema subcutáneo y mediastínico, y edema en la tráquea. Los pulmones presentan un aspecto húmedo y pesado, y los lóbulos tienden a individualizarse debido a que los septos interlobulillares se presentan distendidos por gas y edema. Esta lesión es también conocida por el denominado patrón de “tablero de ajedrez”, debido a la presencia de lobulillos oscuros intercalados con normales o pálidos.
- **Bronconeumonía fibrinosa:** esta forma de neumonía es la que encontramos habitualmente en las infecciones por *M. haemolytica* y, en menor medida *H. somni*. Es la forma más común de neumonía aguda en terneros pasteros. Se caracteriza por una gran distensión de los septos interlobulillares, con edema gelatinoso de color amarillo o fibrina coagulada. Los lóbulos consolidados tienen una apariencia de mármol, con un mosaico desde el rosa, al rojo oscuro o rojo-gris. La presencia de pleuritis es una indicación de la agresividad de la infección pulmonar.



**Figura 23.** Patrones pulmonares de las neumonías más importantes en el ganado vacuno. Adaptado de Panciera y Confer, 2010.

- **Bronconeumonía supurativa:** esta forma de neumonía es la forma más común que se observa en terneras lecheras de recría jóvenes, generalmente asociada a la infección por *P. multocida*. Se trata de una neumonía bilateral, que se extiende cráneo-ventralmente, y que es moderadamente firme. En las lesiones agudas, los lóbulos afectados son bastante uniformes. El color varía del rosa, rosa-gris, rojo oscuro, rojo-gris o gris con un mínimo o leve edema septal. No suele observarse pleuritis, aunque si está presente se compone de pequeños focos de fibrina en hebras. El patrón al corte es de tipo bronquiolar y peribronquiolar con exudado intrabronquial de tipo purulento o mucopurulento. Cuando se cronifica, se puede observar fibrosis inter e intralobular y adherencias.
- **Neumonía caseonecrótica:** característica de la infección por *Mycoplasma bovis*. Cada vez se ve con mayor frecuencia, especialmente en ganado de cebo, aunque aproximadamente en el 70% de los casos aparece en combinación con otras bacterias. La diseminación en el pulmón es de tipo sistémica, lo que produce un patrón pulmonar generalizado, afectando a todos los lóbulos, pudiendo también dar lugar a sinovitis serofibrinosa y/o otitis media. Además de las lesiones agudas, muchos terneros desarrollarán una neumonía crónica multifocal, con necrosis caseosa dentro de los lóbulos pulmonares, fundamentalmente en los craneales en forma de microabscesos fácilmente visibles en la necropsia.
- **Neumonía granulomatosa:** característica en la neumonía tuberculosa, de gran relevancia a nivel mundial por su carácter zoonótico. Debe el nombre a los granulomas caseosos que aparecen en los pulmones y, ocasionalmente, en otros órganos y especialmente en los ganglios linfáticos regionales. La lesión clásica de la tuberculosis es el nódulo caseoso, generalmente encapsulado, con contenido caseoso desde blanco a amarillo pálido debido a la necrosis caseosa, con o sin focos de mineralización.
- **Neumonía metastásica o embólica:** se desarrolla como múltiples focos inflamatorios distribuidos en todos los lóbulos pulmonares debido a su diseminación hematogena, a diferencia de la bronconeumonía supurativa crónica y la perineumonía fibrinosa de distribución cráneo-ventral. Los pulmones aparecen normalmente edematosos e incluso enfisematosos. Puede suceder que se produzca erosión de las ramas de la arteria pulmonar causando hemorragia pulmonar y la fuga de sangre libre en grandes vías respiratorias, motivo por el que es una de las causas más frecuentes de muerte súbita en el bovino.
- **Neumonía de aspiración:** es más frecuente en terneros mamones con alimentación forzada. Las lesiones resultantes son de tipo unilateral, de naturaleza necrotizante a gangrenosa, y predominantemente cráneo-ventrales e incluso caudales sin compromiso pulmonar craneal. Las lesiones son de color marrón a verdoso, a menudo formando cavidades quísticas que exudan un fluido marrón maloliente que puede contener el material ingerido.

- **Neumonía parasitaria:** producidas por el parásito *Dictyocaulus viviparus* con lesiones muy variables, desde las primeras fases o período prepatente, donde las larvas están migrando y desarrollándose dentro del pulmón, producen pequeños focos de neumonía intersticial y bronquiolitis eosinofílica, hasta las fases finales, con consolidación gris o pálida y enfisema, debido a la espiración forzada y a los nódulos parasitarios. En los casos más graves pueden verse nematodos adultos blancos y finos entre moco espumoso en los bronquios distales.
- **Neumonía micótica:** siempre de tipo oportunista en el ganado bovino, pero puede producirse por hongos como *Coccidioides immitis*, o especies de *Aspergillus*, *H. capsulatum*, y otros hongos oportunistas.

### 1.3.3. Prevención y tratamiento del SRB

En la prevención del SRB, el objetivo fundamental será minimizar de manera efectiva la exposición de los animales a los agentes patógenos, estimular la inmunidad de grupo, y gestionar los factores de riesgo que potencian la propagación del SRB (Edwards, 210). Además de estas pautas fundamentales, se han desarrollado distintos protocolos preventivos y/o terapéuticos basados en el uso de antibióticos, de entre los que debemos diferenciar principalmente el tratamiento terapéutico, el profiláctico y el metafiláctico.

El **tratamiento terapéutico** es el que se realiza de manera individual en animales considerados enfermos, es decir, con signos respiratorios y con más de 40°C de temperatura (Edwards, 2010; Schaefer *et al.*, 2012). El tratamiento terapéutico en el vacuno requiere de espectro antibiótico en sangre mantenido durante varios días, lo puede hacer necesaria su administración diaria, según el tipo de antibiótico. Además, se debe ir valorando la evolución cada 48 horas para determinar la eficacia del protocolo terapéutico, de modo que si el animal no responde a la terapia inicial se le administrará el siguiente antimicrobiano del protocolo, con un éxito terapéutico esperado del 80% a 85% (Edwards, 2010).

Para la selección de un antimicrobiano apropiado para el agente causal de cualquier infección bacteriana no sólo se deben tener en cuenta los resultados de los antibiogramas (Stratton, 1988), sino que, específicamente en los casos de SRB en terneros de cebo, deben contemplarse factores tales como el tiempo de retirada (para poder comercializar la carne de los animales tratados), la vía y frecuencia de administración y el precio del producto. Los antibiogramas influyen en la toma de decisiones de manera moderada dado que generalmente se llevan a cabo a partir de muestras de necropsia que pueden o no ser representativas para el resto del rebaño (Taylor *et al.*, 2010), aunque es cierto que proporcionan una mayor expectativa de eficacia en el tratamiento frente a las bacterias aisladas (Lubbers y Turnidge, 2015).

Cuando hay fallo terapéutico repetido o lo que es lo mismo, los animales no responden al cabo de dos o más tratamientos sucesivos, éstos se consideran enfermos crónicos (los animales que en el argot del sector denominamos directamente “crónicos”); es habitual, además, un notable retraso en el crecimiento o bien una importante pérdida de peso en estos animales, (Pardon *et al.*, 2013), siendo



frecuente en estos casos, aislar *M. bovis* como único patógeno o junto a otras bacterias respiratorias (Shahriar *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2010a). Los terneros crónicos son una de las causas más importantes de pérdidas económicas producidas por SRB, y de difícil cuantificación, como ya comentamos anteriormente (Wittum *et al.*, 1996). Cuando los tratamientos se instauran de manera precoz, se da una mejora en el pronóstico derivada de la mayor eficacia de los tratamientos utilizados, reduciéndose los costes y la probabilidad de que los animales se conviertan en crónicos (Smith *et al.*, 2001).

Tanto la **profilaxia** como la **metafilaxia** se basan en la aplicación de un antibiótico en masa en un momento estratégico para prevenir la instauración del cuadro clínico, eliminando o minimizando un brote esperado de la enfermedad (Edwards, 2010; Sweiger y Nichols, 2010).

La justificación de los **tratamientos antimicrobianos profilácticos** en masa de tipo inyectable se fundamenta en la hipótesis de un menor uso de los antibióticos orales, con la esperanza de obtener unos mejores resultados en cuanto a antibiorresistencias (Rérat *et al.*, 2012). Entre otros motivos, porque el desarrollo de resistencias generalizadas frente a los antimicrobianos usados de manera terapéutica frente a los agentes patógenos del SRB sería muy costoso económicamente para la industria ganadera (Watts y Sweeney, 2010).

La **metafilaxia**, a diferencia de los tratamientos profilácticos, se aplica en función de una serie de criterios de riesgo (Smith *et al.*, 2001). La práctica de la metafilaxia antibiótica está muy difundida por las características del sector del vacuno de cebo [sistemas de producción intensiva, explotaciones grandes, problemas de mano de obra, hacinamiento de los animales y altos índices de enfermedad; (Nutsch *et al.*, 2005; Skogerboe *et al.*, 2005)], siendo los terneros de alto riesgo el objetivo principal (Edwards, 210). El uso controlado de la metafilaxia en el ganado vacuno de alto riesgo ha demostrado ser eficaz y rentable en el control de los patógenos bacterianos asociados a los brotes de SRB (Booker *et al.*, 2007, 2006; Buczinski *et al.*, 2015a; Cusack, 2004; Edwards, 2010; Galyean *et al.*, 1995; Godinho *et al.*, 2005; Guichon *et al.*, 1993; Harland *et al.*, 1991; Ives y Richeson, 2015; Johnson *et al.*, 2008; Morck *et al.*, 1993; Nickell *et al.*, 2008; Regev-Shoshani *et al.*, 2015; Rooney *et al.*, 2005; Schumann *et al.*, 1991, 1990; Schunicht *et al.*, 2002; Step *et al.*, 2007; Van Donkersgoed, 1992; Vogel *et al.*, 1998). Por ello, algunos autores defienden su acción no sólo preventiva sino también curativa, ya que los terneros que llegan a los cebaderos no sólo pueden estar en riesgo de desarrollar SRB, sino que también pueden estar cursando ya las primeras fases de la enfermedad (Schumann *et al.*, 1990; Young, 1995); además, la metafilaxia tendría un efecto positivo sobre la reducción de la presión bacteriana general del cebadero (Nickell y White, 2010).

La práctica de la metafilaxia implica el control de ciertas variables clínicas en el lote hasta que aumentan por encima de un valor límite determinado de antemano, en cuyo momento todo el lote es tratado. Esos criterios fueron descritos por Smith y colaboradores en 2001 y ratificados por diferentes autores posteriormente (Edwards, 2010; Nickell y White, 2010) y son los siguientes:

- La presencia de animales enfermos en el lote, especialmente si la tasa de SRB clínico supera el 10% durante 2-3 días consecutivos, o cuando se tratan por enfermedad el 25% o más de los terneros en un solo día
- Cuando exista una elevada morbilidad de la enfermedad en origen (animales de granjas con una morbilidad esperada superior al 20%)
- En animales que provienen de diferentes orígenes
- En animales sometidos a transportes de larga duración
- En animales que manifiesten un descenso de consumo
- En animales que muestren una alta temperatura rectal en un alto porcentaje

Los objetivos de la metafilaxia son: reducir la morbilidad, reducir la mortalidad, mejorar los rendimientos, facilitar el manejo, suplir la inexperiencia del personal y mejorar los beneficios (Díaz *et al.*, 2001; Duff y Galyean, 2007). La reducción esperada de la morbilidad cuando se comparan animales donde se ha aplicado un protocolo metafiláctico y aquéllos sin tratamiento es del 50% (Encinas *et al.*, 2006; Morck *et al.*, 1993; Nickell y White, 2010; Schumann *et al.*, 1991, 1990), con una importante reducción de los segundos tratamientos. Por ello, se justifica en términos de rentabilidad siempre que la prevalencia inicial supere el 25% (Nickell y White, 2010).

En diferentes estudios, se ha determinado la eficiencia de estos protocolos metafilácticos, comparando el momento de la administración (Duff *et al.*, 2000; McClary y Vogel, 1999), antes del transporte (Frank *et al.*, 2002; Frank y Duff, 2000), tras la llegada a su destino (Duff *et al.*, 2000; Vogel *et al.*, 1998) y vía oral en la alimentación durante las 2-3 primeras semanas del cebo (Edwards, 2010). Los resultados fueron similares cuando se compara la eficacia del tratamiento antes y después del transporte (Duff *et al.*, 2000), lo que, junto con el hecho de que el momento de mayor exposición al estrés y a los patógenos de alto riesgo para los terneros es durante el “procesamiento” inicial de los animales (exploraciones y tratamientos que se les aplican en las primeras 24h de entrada a los cebaderos), se justifica que este momento de la entrada sea el momento más frecuente en el que se administra la metafilaxia (Edwards, 2010).

En cuanto a los principios activos a utilizar, se ha demostrado efecto positivo de la metafilaxia aplicando diferentes protocolos y antibióticos (tabla 7). No obstante, la selección del fármaco destinado a su uso metafiláctico debe fundamentarse en una decisión económica a partir de evidencias científicas de eficacia y considerando el coste de los antibióticos, (Edwards, 2010). Hay que tener en cuenta que además, esta decisión repercute directamente en la reducción del uso de antibióticos (Rérat *et al.*, 2012).

Existen estudios que evidencian que antimicrobianos como florfenicol y fosfato de tilmicosina vía parenteral inhiben eficazmente la colonización de la nasofaringe por *Mannheimia haemolytica*, lo que implica una reducción de la aparición de SRB en su presentación aguda (Frank *et al.*, 2002; Frank y Duff, 2000). En otros estudios se pone de manifiesto cómo la metafilaxia con tilmicosina administrada durante el procesado de llegada mejora la GMD y el consumo de materia seca en los animales (Duff *et al.*, 2000; Vogel *et al.*, 1998).

**Tabla 7.** Antimicrobianos con uso metafiláctico en el ganado bovino (adaptado de Edwards, 2010).

ANTIMICROBIANOS DE USO METAFILÁCTICO			
Principio activo	Dosis	Vía	Periodo de espera (residuos)
ANTIMICROBIANOS INYECTABLES			
Ceftiofur (ácido libre) cristalino	6,6 mg/kg	SC (en oreja)	13 d
Florfenicol	40,0 mg/kg	SC	38 d
Oxitetraciclina	30,0 mg/kg	IM/SC	28 d
Tilmicosina	20,0 mg/kg	SC	42 d
Tulatromicina	2,5 mg/kg	SC	18 d
ANTIMICROBIANOS ORALES			
Clortetraciclina	10 mg/0,45 kg (1lb)/d	VO (pienso)	0 d
Clortetraciclina + sulfametazina	350 mg/d	VO (pienso)	7 d

SC: subcutáneo; IM: intramuscular; VO: vía oral.

El uso de antimicrobianos administrados vía oral para el tratamiento y control del SRB también es una forma aprobada de metafilaxia (Edwards, 2010), aunque es una práctica asociada a un mayor riesgo de resistencias antimicrobianas (Rérat *et al.*, 2012), a una menor eficacia terapéutica y a una mayor mortalidad en los terneros (Martin *et al.*, 1982; Taylor *et al.*, 2010b). Los productos antimicrobianos aprobados para su adición en pienso o agua son clortetraciclina y su combinación con sulfametazina, que pese a estar testados para el control de especies de *Pasteurella* susceptibles a la clortetraciclina, exigen alcanzar niveles de consumo difíciles de obtener en animales enfermos (Buhman *et al.*, 2000).

En base a la actual tendencia de un uso más racional de antibióticos en los animales de producción, se están desarrollando protocolos, fundamentalmente con antibióticos parenterales, para su aplicación en base a metafilaxia parcial a partir de distintos criterios de diagnóstico precoz que permitan la prevención de antibiorresistencias mediante la reducción del uso de antimicrobianos (OIE-WHO-FAO, 2004), como es el caso de la medición de temperatura (Galyean *et al.*, 1995; Vogel *et al.*, 1998) o de otros indicadores, como el lactato en sangre mediante medidores portátiles (Buczinski *et al.*, 2015b). En el caso de la metafilaxia parcial basada en la temperatura rectal, se han demostrado mejores resultados, tanto en la salud como en la productividad de los animales, cuando se administra tilmicosina sólo a aquellos animales que a la llegada al cebadero tengan una temperatura superior a 40°C (Vogel *et al.*, 1998). En otro estudio donde no se discriminó entre resultados de mejora de salud o de crecimiento, se compararon los resultados entre animales tratados con metafilaxia en masa respecto de los de animales tratados con metafilaxia parcial cuando la temperatura

rectal era igual o superior a 39,7°C, sin observarse diferencias entre grupos, lo que supuso una reducción sustancial del uso de antibióticos (Galyean *et al.*, 1995).

En general, una monitorización estrecha y cuidadosa de los animales, tratamientos tempranos y efectivos, junto con pautas de manejo adecuado de los terneros enfermos son las medidas generales indicadas para producir carne de bovino de manera competitiva (Lechtenberg *et al.*, 1998).

#### **1.4. EL DIAGNÓSTICO EN EL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO**

Tal y como hemos visto en el punto anterior (1.3), las características de la enfermedad hacen que su prevención sea muy compleja, ya que son muchos los factores a controlar. Por ello, cobran una gran importancia las acciones destinadas al diagnóstico eficaz y precoz del SRB.

##### **1.4.1.Relevancia del diagnóstico: implicaciones y posibilidades**

Es frecuente detectar tarde a los animales con SRB e incluso no llegar a diagnosticarlos nunca (Timsit *et al.*, 2011). No obstante, como ya hemos comentado anteriormente, la intervención temprana frente a los procesos de SRB es clave para el éxito del tratamiento de esta enfermedad, resultando en menores tasas de recaída y en menor mortalidad (Wolfger *et al.*, 2015); repercutiendo, por tanto, de manera importante en la eficiencia económica de los cebaderos.

Por otro lado, dado que los signos clínicos que muestran los animales enfermos a menudo no son patognomónicos de SRB (es decir, depresión, pérdida de apetito, cambios en la frecuencia respiratoria, y aumento de la temperatura rectal, tal y como se describe en el apartado 1.3.2; Griffin *et al.*, 2010), nos encontramos con una gran proporción de terneros tratados que no están verdaderamente afectados por SRB (White y Renter, 2009). Por ello, elevar la especificidad del diagnóstico de SRB daría lugar a un uso más responsable y eficaz de los antimicrobianos, reduciendo además, los costes relativos al control del SRB en los cebaderos (Theurer *et al.*, 2015).

Por ello se han desarrollado recientemente nuevos métodos y tecnologías para mejorar la precisión del diagnóstico, posibilitar una detección más temprana y elevar la exactitud del pronóstico de SRB (Wolfger *et al.*, 2015). El desafío no sólo lo encontramos en las limitaciones tecnológicas o de desarrollo de nuevas herramientas, sino que también topamos con la dificultad de interpretación de los resultados de estas “nuevas” pruebas (Theurer *et al.*, 2015). En este mismo trabajo se refleja cómo el interés a la hora de desarrollar pruebas diagnósticas es generar información que influya sobre las decisiones de prevención, control y tratamiento de enfermedades. Una prueba diagnóstica puede ser tan simple como una combinación de los signos clínicos o métodos más sofisticados que impliquen una toma de muestras específicas para analizarlas en un laboratorio externo (McKenna y Dohoo, 2006).

En cualquier caso, la interpretación adecuada de los resultados es fundamental para la optimización de los programas terapéuticos y preventivos basada en los posibles resultados de las pruebas.

#### **1.4.2. Métodos diagnósticos**

En una reciente y completa revisión sobre técnicas diagnósticas relacionadas con SRB (Wolfger *et al.*, 2015), los autores resumían los tipos de técnicas diagnósticas como basadas, por un lado, en los signos clínicos, por otro, como basadas en las pruebas laboratoriales de carácter confirmatorio; posteriormente, en los métodos de detección temprana de enfermedad y finalmente, en los métodos pronósticos. Lo cierto es que hay muchas clasificaciones posibles para agrupar las diferentes técnicas diagnósticas relativas a SRB: las que requieren de extracción de muestras o no, las realizables *antemortem* o *postmortem*, etc., pero todas tienen como objetivo aportar información útil para la toma de decisiones en el campo.

En los siguientes apartados describiremos de manera resumida tanto los métodos diagnósticos más relevantes, en base a si requieren o no una toma de muestras, como las técnicas para las tomas de muestras pertinentes para poder llevarlos a cabo, dejando un apartado especial (1.5) para la descripción de dispositivos auxiliares y otras técnicas novedosas desarrolladas con fines diagnósticos.

##### **1.4.2.1. Métodos diagnósticos que no requieren toma de muestras**

Entre los métodos diagnósticos que no requieren toma de muestras cabría destacar las herramientas de diagnóstico epidemiológico basadas en el análisis de los datos y de indicadores como las tasas de morbilidad y mortalidad, entre otros (Adams, 2003). Aunque se trata de herramientas de gran interés general, por las características del presente trabajo pasaremos directamente a centrarnos en las técnicas clínicas de diagnóstico y las técnicas complementarias, así como en la necropsia.

##### **1.4.2.1.1. Diagnóstico clínico**

El diagnóstico clínico (basado en la observación de los signos clínicos) es uno de los métodos diagnósticos más tradicionales. Además, no está restringido a los veterinarios, sino que el mismo personal de los cebaderos puede utilizarlos para evaluar la salud de los terneros de un modo subjetivo, basándose en los cambios de comportamiento de los animales y en su aspecto. Sin embargo, este método diagnóstico presenta una baja sensibilidad (estimada en un 62%), lo que ha limitado este método a la hora de detectar eficazmente SRB (White y Renter, 2009).

Dentro del diagnóstico clínico es importante diferenciar el diagnóstico del animal individual y el poblacional o, lo que es lo mismo, el diagnóstico a nivel de rebaño.

#### 1.4.2.1.1.1. Diagnóstico clínico de SRB en la medicina individual

Sivula y colaboradores determinaron ya en 1996 cómo la sensibilidad en la detección del SRB mediante signos clínicos por parte de los ganaderos era sólo del 56% (Sivula *et al.*, 1996), lo que implica que sólo diagnostican aproximadamente uno de cada dos casos de neumonía, y cuando lo identifican no es de forma precoz sino que en la mayor parte de los casos han transcurrido ya entre cuatro y cinco días desde su debut clínico. Los métodos tradicionales de identificación del animal enfermo o “caso clínico”, se basan en la historia clínica (Cooper y Brodersen, 2010) y en la presencia de signos clínicos. Este método diagnóstico se caracteriza por su falta de precisión y por su subjetividad (Branscum *et al.*, 2005; Enoe *et al.*, 2000). Ames (Ames, 1993) no sólo coincidió con lo anterior sino que ya apuntó hacia la dificultad del diagnóstico precoz de la enfermedad. En su opinión, el único signo precoz sería la fiebre, siendo los animales con más signos o que presentaban emaciación ya, casos de tipo crónico.

Por lo tanto, es recomendable objetivizar los signos clínicos usando clasificaciones con los que sea posible asignar una determinada puntuación que refleje igualmente la gravedad del proceso y eleve un poco la sensibilidad del diagnóstico clínico (Aly *et al.*, 2014; Love *et al.*, 2014; McGuirk, 2008; Panciera y Confer, 2010; Thomas *et al.*, 1977). Así pues, un sistema de puntuación clínico simple y objetivo, mejora y normaliza la identificación de terneros con SRB sin tener que asumir grandes costes (Love *et al.*, 2014). Estos sistemas de puntuación asignan valores a los signos clínicos que se utilizan para determinar una puntuación total. Esta puntuación total del ternero en concreto debe corresponder, a su vez, al riesgo o probabilidad de enfermedad. Los sistemas de puntuación pueden combinarse con los resultados de otras pruebas suplementarias, aunque hay autores que opinan que la introducción de pruebas costosas o que retrasen las conclusiones diagnósticas no son beneficiosas para el diagnóstico en campo (Sullivan *et al.*, 2004).

Según White y Renter (White y Renter, 2009), en el SRB, el signo clínico precoz más frecuente es la depresión, signo clínico inespecífico asociado a numerosos procesos de tipo infeccioso. Por ello, una vez identificados los animales sospechosos, éstos deberán ser explorados individualmente para llegar al diagnóstico certero. Uno de los protocolos de diagnóstico clínico más usados en campo es el planteado por McGuirk y en 2008, aunque existen otros muchos (Aly *et al.*, 2014; Bryant *et al.*, 1999; Buczinski *et al.*, 2013; Love *et al.*, 2014; Panciera y Confer, 2010; Thomas *et al.*, 1977). El protocolo propuesto por McGuirk en 2008, sugiere la valoración de los terneros individualmente asignándoles una puntuación clínica de entre 0 (normal), 1 (variación ligeramente anormal), 2 (anormal), ó 3 (gravemente anormal) para la temperatura (único signo objetivo), secreción nasal, tos y secreción ocular, y la posición de las orejas (McGuirk, 2008; tabla 8). Los terneros con una puntuación total por encima de cuatro se considerarán enfermos.

En el caso de estar ante terneros alojados ya en lotes, para hacer una valoración de rebaño, la autora propone la evaluación de entre 20 y 50 terneros (tablas 9 y 10), dando como límite una puntuación  $\leq 3$  en el 25% de los animales. Para un óptimo funcionamiento de esta herramienta aconseja aplicar este protocolo diagnóstico un mínimo de dos veces por semana. Cuando esto no sea posible, deberían valorarse

los terneros, al menos, durante los periodos más críticos como son el inicio de casos de SRB en un lote, los días posteriores al destete o momentos de estrés especial consecuentes a intervenciones de manejo, etc.

**Tabla 8.** Protocolo de puntuación de SRB en terneros (adaptado de McGuirk, 2008).

Protocolo de puntuación de terneros			
0	1	2	3
TEMPERATURA RECTAL (°C)			
37,8-38,4	38,5-38,9	39-39,4	≥39,5
TOS			
Ausente	Tos esporádica inducida	Inducida repetida o espontánea ocasional	Espontánea repetida
DESCARGA NASAL			
Normal serosa	Descarga ligera opaca unilateral (44)	Descarga opaca o mucosa bilateral (45)	Abundante descarga bilateral mucopurulenta (46)
PUNTUACIÓN OJOS			
Normal	Ligera descarga ocular (50)	Moderada descarga bilateral (59)	Abundante descarga (49)
PUNTUACIÓN OREJAS			
Normal	Agita las orejas o sacude la cabeza	Oreja caída unilateral (48)	Cabeza inclinada (47) u orejas caídas bilaterales

**Tabla 9.** Protocolo diagnóstico de SRB en terneros lactantes y posdestete (adaptado de McGuirk, 2008).

Animal ID	Edad	Descarga nasal	Ojos/orejas (mayor puntuación)	Tos (espontánea o inducida)	Temperatura	PUNTUACIÓN TOTAL

*Puntuación de terneros alojados en caseta individual. Con una puntuación total de 4 mantener en observación y si la puntuación es >5 tratar.*

**Tabla 10.** Protocolo diagnóstico de SRB en terneros alojados en lotes (adaptado de McGuirk, 2008).

Corral	Rango de Edad	Nº terneros	Descarga nasal	Ojos	Orejas	Tos tras el movimiento	PUNTUACIÓN TOTAL

*Puntuación de 20-50 terneros alojados en grupos. Ideal: <25% anormal (score 2 ó 3) en cada categoría.*

#### 1.4.2.1.1.2. El diagnóstico del SRB a nivel de rebaño

Uno de los aspectos primordiales a la hora de alcanzar el éxito terapéutico a nivel de rebaño es el hecho de que el tratamiento se instaure de manera precoz, lo que implica a su vez que el diagnóstico también lo sea. Y es que un diagnóstico y tratamiento tardíos dan lugar a una mayor incidencia de neumonía a nivel del rebaño, a un uso prolongado de los antibióticos, a mayor incidencia de abscesos pulmonares y otitis (ambos signos de cronificación del proceso), a mayores tasas de recidiva y a mayores tasas de mortalidad (McGuirk, 2008).

En el caso específico de la entrada de los terneros de cebo no se trata sólo de la detección individual de casos de SRB, sino que es también fundamental determinar si estamos ante un futuro brote a la hora de decidir si es recomendable aplicar medidas metafilácticas a toda la población o no.

En cebo, según indica la Directiva 97/2/CE, deben realizarse revisiones sistemáticas para identificar animales sospechosos de enfermedad al menos dos veces al día en los animales estabulados permanentemente y, como mínimo, una vez al día en los mantenidos en el exterior. Esta revisión debe ser especialmente meticulosa en los grupos de mayor riesgo, como serían aquéllos durante el periodo inicial de adaptación que tiene lugar durante las primeras dos a tres semanas tras la entrada o tras realizar cambios de manejo/pienso/lote asociados a mayor nivel de estrés (Brscic *et al.*, 2012).

El protocolo de observación a nivel de grupo previamente descrito (McGuirk, 2008), debe realizarse primero desde fuera del corral para detectar animales deprimidos y, a continuación, desde dentro para explorar individualmente a los animales señalados. Duff y Galyean (Duff y Galyean, 2007) recomiendan seguir un patrón de movimientos estándar dentro del corral que permita evaluar a todos los animales por ambos lados y, además, revisar completamente los patios.

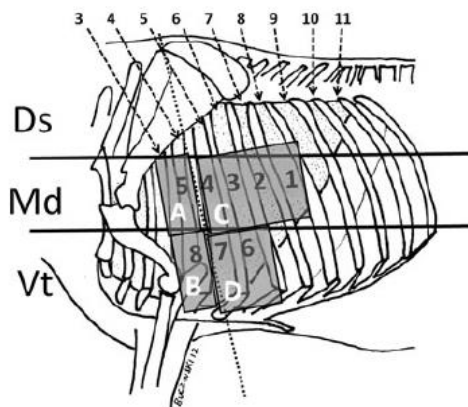


#### 1.4.2.1.2. Pruebas complementarias al diagnóstico clínico que no requieren toma de muestras

Es frecuente encontrar estudios donde se comparan o se complementa la clasificación o protocolo de diagnóstico clínico con otras técnicas complementarias. Éstas incluyen desde la auscultación (Buczinski *et al.*, 2014), la radiología (Jung y Bostedt, 2004; Reef *et al.*, 1991), la ecografía (Abutarbush *et al.*, 2012; Buczinski *et al.*, 2015a; Buczinski *et al.*, 2013; Flöck, 2004; Jung y Bostedt, 2004; Olivett *et al.*, 2011; Reef *et al.*, 1991; Reinhold *et al.*, 2002; Scott, 2013) la visualización de las lesiones pulmonares *postmortem* (Leruste *et al.*, 2012; Wittum *et al.*, 1996) e incluso la evaluación de la respuesta al tratamiento (Scott, 2013; Wittum *et al.*, 1996). Esto es así porque la información obtenida por una sola técnica diagnóstica no suele aportar información suficiente (Griffin *et al.*, 2010; Wolfger *et al.*, 2015).

##### 1.4.2.1.2.1. Auscultación torácica

La auscultación torácica es una técnica relativamente sencilla pero con grandes limitaciones diagnósticas en el ganado vacuno (Scott, 2013). Si dividimos el tórax en tres regiones longitudinales iguales (figura 24): dorsal, media y ventral, y nos centramos en examinar las partes medias y ventral del tórax, cubriremos las zonas más comunes de la bronconeumonía bacteriana bovina ya descritas también en el capítulo 1.2 (Buczinski *et al.*, 2014).



**Figura 24.** Áreas de auscultación pulmonar (A-D) en terneros, de Buczinski *et al.*, 2014.

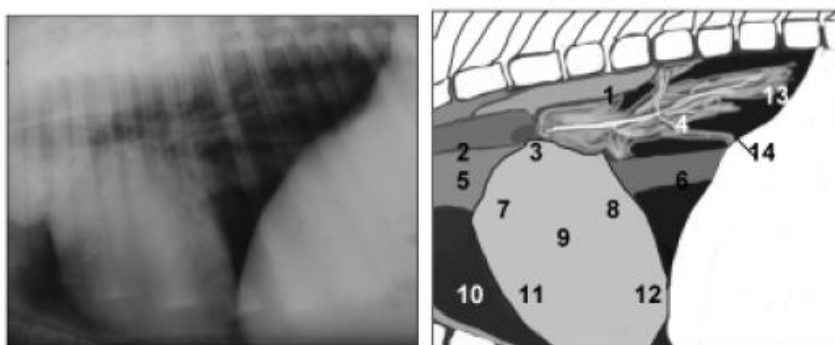
En este mismo trabajo (Buczinski *et al.*, 2014), se describe la presencia de sonidos pulmonares anormales, incluyendo crepitaciones, sibilancias y fricción pleural y la ausencia de ruidos en vías respiratorias como anormales. Se estimó que la sensibilidad de la

auscultación torácica media para detectar consolidación pulmonar era de 0 a 16,7%. De hecho, en un estudio realizado en ovejas donde se comparó la auscultación con la ecografía y la necropsia, se observó que las lesiones pulmonares graves se pueden pasar por alto fácilmente usando sólo la auscultación torácica (Scott, 2011).

#### 1.4.2.1.2.2. Radiología

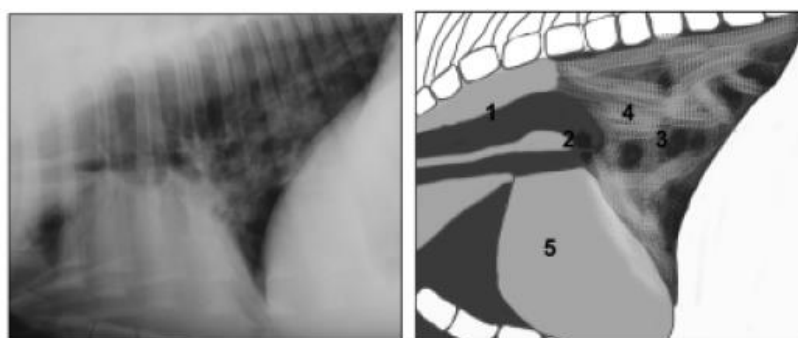
La radiología torácica es una técnica que se restringe a uso hospitalario en el ganado vacuno debido a la imposibilidad de llevarla a cabo en el campo. No obstante es de gran utilidad, por ejemplo, para la puesta a punto de otras técnicas como la ecografía (Jung y Bostedt, 2004; Reef *et al.*, 1991) y para caracterizar las lesiones con mayor detalle que otras técnicas de imagen, como la ecografía (Reef *et al.*, 2004).

Los exámenes radiológicos deben realizarse mediante una vista latero-lateral (figura 25), donde las áreas pulmonares hepatizadas se identifican como áreas radio-opacas (figura 26); las zonas atelectásicas como áreas sin broncograma aéreo o alveolograma (sólo en atelectasias pulmonares casi totales se detectaría el broncograma del bronquio principal opaco) y las bronconeumonías moderadas con un aumento de la opacidad de pulmón con patrón alveolar (Jung *et al.*, 2014).



**Figura 25.** Radiografía de un pulmón normal, ventilado (Jung y Bostedt, 2004)

1: aorta; 2: tráquea; 3: bronquios principales; 4: arterias pulmonares; 5: mediastino; 6: vena cava caudal; 7: aurícula derecha; 8: aurícula izquierda; 9: corazón; 10: lóbulo craneal del pulmón; 11: ventrículo derecho; 12: ventrículo izquierdo; 13: pulmón; 14: diafragma.



**Figura 26.** Radiografía de un pulmón con bronconeumonía grave (Jung y Bostedt, 2004). 1: tráquea; 2: sección del bronquio; 3: patrón alveolar; 4: pulmón consolidado; 5: corazón.

#### 1.4.2.1.2.3. Ecografía

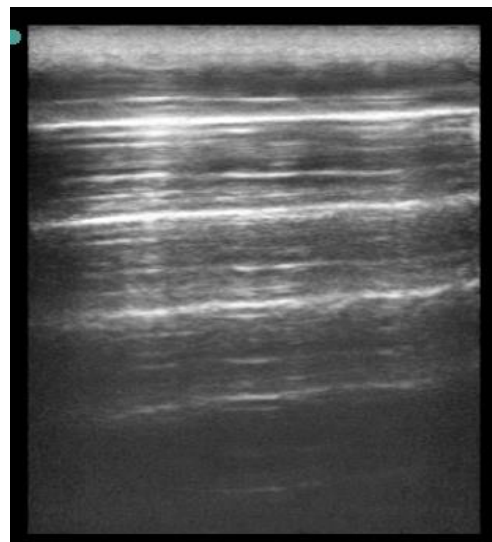
La ecografía: es una herramienta de diagnóstico no invasivo que se ha utilizado cada vez más frecuentemente en los últimos años para evaluar pulmones y pleura, como fuente de información complementaria a la exploración clínica y con la ventaja de poder realizarse de manera sencilla y con resultados inmediatos, a diferencia de las radiografías (Buczinski *et al.*, 2013). Por otro lado, la ecografía torácica ha demostrado estar altamente correlacionada con la información radiográfica (Jung y Bostedt, 2004) y con las lesiones observadas tras la necropsia (Reinhold *et al.*, 2002) en los terneros.

La ecografía sistemática del tórax puede utilizarse de forma rutinaria para evaluar tanto la consolidación pulmonar como el SRB subclínico en terneras lecheras (Buczinski *et al.*, 2013). La consolidación pulmonar se utiliza como indicador pronóstico (Buczinski *et al.*, 2014, 2013; Buczinski *et al.*, 2015a; Jung y Bostedt, 2004; Olivett *et al.*, 2011), basado en el hecho de que los animales con lesiones pulmonares consolidadas muestran alteraciones en el crecimiento (Wittum *et al.*, 1996).

Aunque autores como Buczinski defienden que, además, no se requiere demasiado entrenamiento para reconocer las principales alteraciones y la presencia de consolidación pulmonar, es posible que incluso ecografistas experimentados puedan confundir zonas atelectásicas con áreas consolidadas (Jung y Bostedt, 2004).

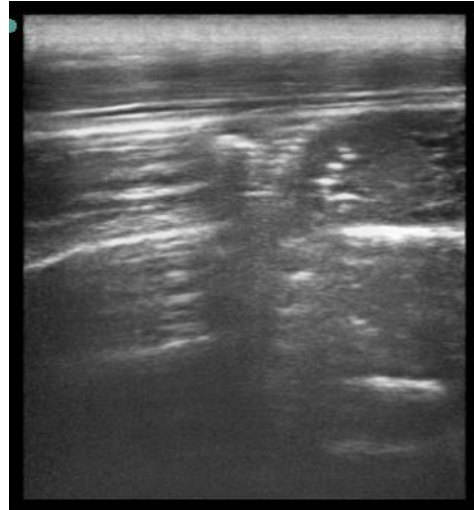
Aunque tradicionalmente se ha sugerido que el examen de la región pulmonar craneal es difícil, los estudios más recientes realizados en terneros reportan exámenes de todo el tórax, examinándose cada espacio intercostal tras la aplicación de gel acústico más la sonda de manera paralela a las costillas, incluso con sondas de 5-7 MHz (Buczinski *et al.*, 2013, 2014, 2015a).

Tal y como explican Babkine y Blond (Babkine y Blond, 2009), normalmente, la pleura visceral y la superficie pulmonar forman una línea hiperecogénica (figura 27). El tejido pulmonar normal, lleno de aire, no debería dar imágenes más allá del artefacto conocido como “cola de cometa”, que se trata de una reverberación que representa una serie de ecos estrechamente espaciados, que indican la acumulación focal de una pequeña cantidad de tejido alterado entre otro tejido altamente reflectante, que suelen ser burbujas de gas.



**Figura 27.** Ecografía de un pulmón sano.

Las lesiones pleurales y en especial, la acumulación de fluido entre la pleura parietal y la visceral, se observan como un contenido-líquido desde anecoico a más o menos ecoico, dependiendo de las características del fluido y la consolidación pulmonar aparece como una imagen hipoecoica (figura 28), similar a la del parénquima hepático (Babkine y Blond, 2009; Flöck, 2004; Jung y Bostedt, 2004).



**Figura 28.** Ecografía de pulmón con neumonía.

Los estudios más recientes apuntan cada vez más al gran valor diagnóstico de la ecografía en el SRB en los rumiantes (Buczinski *et al.*, 2013, 2014, 2015a; Babkine y Blond, 2009; Flöck, 2004; Jung y Bostedt, 2004), incluso en especies como los búfalos (Tharwat y Oikawa, 2011) o en el SRB subclínico (Olivett *et al.*, 2011; Streeter y Step, 2007), aunque con la limitación de no permitir la extracción de muestras biológicas de utilidad, ya que las biopsias ecoguiadas no han dado buenos resultados (Burgess *et al.*, 2013; 2011). Esta circunstancia se atribuye, en parte, a la dificultad a la hora de biopsiar los lóbulos craneales mediante esta técnica (Braun *et al.*, 2000; Sydler *et al.*, 2004) y también a la dificultad de diferenciar tejido afectado localizado en planos profundos o rodeado de tejido pulmonar sano (Jung y Bostedt, 2004).

Otra de las limitaciones de esta técnica se refiere al parénquima atelectásico, que muestra un aspecto ecográfico similar al "pulmón consolidado" (Babkine y Blond, 2009). El pulmón de los terneros es más susceptible a la atelectasia secundaria y al enfisema debido a que tienen unas vías respiratorias más cortas, el sistema mucociliar inmaduro y una falta de inmunidad adquirida (Jubb y Kennedy, 1991). Por otro lado, las lesiones profundas rodeadas de parénquima normal, lleno de aire, no se detectan (Buczinski *et al.*, 2013; Reinhold *et al.*, 1998). En cuanto al valor pronóstico de la ecografía en el ganado con SRB, tan sólo están disponibles unos pocos estudios y con resultados contradictorios (Abutarbush *et al.*, 2012; Buczinski *et al.*, 2015a; Olivett *et al.*, 2011).

#### 1.4.2.1.2.4. Broncoscopia

La técnica más habitual cuando hablamos de la endoscopia respiratoria es la broncoscopia, mucho más utilizada en equino que en bovino (Cook, 1970; Dixon, 1997; Dixon *et al.*, 1995). La técnica descrita para grandes animales indica que cuando se realiza mediante traqueotomía cervical debe hacerse con el animal en decúbito y bajo anestesia general (Cook, 1970).

En el ganado bovino ha sido una técnica utilizada desde 1984 por investigadores para inocular cepas bacterianas concretas con el fin de provocar infecciones experimentales en terneros de seis meses de edad (Potgieter *et al.*, 1984; Prohl *et al.*, 2014).

La broncoscopia nos permite el acceso hasta los bronquios principales (figura 29), con una buena visualización de la laringe y la tráquea (vídeo 1). Ya en 1994 se describió la exploración endoscópica de la nasofaringe, la laringe y la faringe en vacas de raza jersey (Yerson *et al.*, 1994), habiéndose descrito previamente algunas patologías mediante endoscopia, tales como granulomas laríngeos en un toro (Gamboa *et al.*, 1992), quistes de la concha nasal en terneros y ganado adulto (Cohen *et al.*, 1991; Jean y Robertson, 1987; Ross *et al.*, 1986), quistes subepiglóticos en un ternero neonato (Mattoon *et al.*, 1991) o persistencia de desplazamiento dorsal del paladar blando en toros (Anderson *et al.*, 1994). Más recientemente, se ha utilizado esta técnica para el diagnóstico de tumores faríngeos (Franz y Baumgartner, 2007). Además, se ha descrito la rinoscopia exploratoria en vacas con una mejora en la seguridad y comodidad de la técnica cuando se administra lidocaína intranasal antes del procedimiento (Dadak *et al.*, 2009).



Esta técnica también tiene interés en la toma de muestras; como, por ejemplo, en la obtención de líquido de lavado bronquial (Batista *et al.*, 2012; Burrells y Williams, 1987; Heilmann *et al.*, 1988; Prohl *et al.*, 2014), el *brushing* bronquial y la biopsia de pulmón transbronquial (Prohl *et al.*, 2014), así como en la inoculación intrabronquial (Potgieter *et al.*, 1984; Prohl *et al.*, 2014), asegurando con esta técnica la localización segura en el área pulmonar deseada y mejorando las condiciones de esterilidad.

**Figura 29.** Imagen de broncoscopia en un ternero donde se aprecia la bifurcación de dos bronquios principales.

**Vídeo 1.** Broncoscopia realizada en un ternero con SRB:

[www.veton-line.com/Tesis/Video1.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Video1.mp4)

#### **1.4.2.1.2.5. Tomografía axial computerizada (TAC)**

Son muy pocas las publicaciones referentes a la realización de tomografía torácica en grandes animales; probablemente por su alto precio y porque las dimensiones de los animales no permiten el acceso usual a estas técnicas. No obstante, hay unos pocos trabajos recientes en terneros recién nacidos, aunque relacionados con el estudio del desarrollo de la función pulmonar (Linke *et al.*, 2013; Ohlerth *et al.*, 2014) con tan sólo un trabajo que hace referencia al diagnóstico de un quiste broncogénico intratorácico en un ternero frisón (Berchtold *et al.*, 2013), pero ninguno relacionado con la enfermedad respiratoria.

#### **1.4.2.1.3. Necropsia y monitorización *postmortem***

La visualización directa de los pulmones es de gran utilidad para llegar a un diagnóstico de los casos clínicos individuales y también para valorar si se están implantando a tiempo y correctamente medidas de control a nivel de rebaño. Tanto la necropsia como la monitorización *postmortem*, especialmente de los pulmones en mataderos comerciales, son métodos que permiten la visualización de las lesiones. Por otro lado, con la tecnología actual, es posible disponer de imágenes digitales para diagnosticar y tener resultados similares a los del examen macroscópico *postmortem* directo (Wildman y Schunicht, 2000).

##### **1.4.2.1.3.1. Necropsia**

En un análisis retrospectivo sobre datos obtenidos en Estados Unidos, se vio que la tasa de mortalidad en el ganado de cebo no aumentó significativamente en el periodo transcurrido entre 1994-1999 (Loneragan *et al.*, 2001). Sin embargo, durante ese mismo período, el porcentaje de ganado de cebo muerto y sobre el que se efectuó un examen *postmortem* aumentó considerablemente de un 45,9% a un 53,9%, especialmente debido a un aumento de la práctica de necropsias por parte de los nuevos veterinarios (USDA, 1999).

Idealmente, las necropsias que aportan una información más fiable son las de animales recién eutanasiados (Cooper y Brodersen, 2010), aunque esto sólo debe considerarse si el objetivo de la necropsia es frenar el dolor y el sufrimiento del animal (Griffin, 2015). Además, para obtener información válida, la necropsia debe ser completa, tal y como indica Griffin (Griffin, 2012).

Lo cierto es que se deben necropsiar todos los animales muertos en cada explotación, como también se deben controlar los animales enviados al matadero (McConnel *et al.*, 2010, 2009), ya que la mayoría de las muertes de cebadero que están documentadas muestran unos resultados de muerte por enfermedad respiratoria bovina del 61,2% (Loneragan *et al.*, 2001). No obstante, se obtienen mejores resultados si incorporamos una modelización en la recogida de los datos, en la nomenclatura y en

la categorización de las lesiones (figura 30), lo que permite analizar estadísticamente los resultados de las mismas (McConnel *et al.*, 2010).

Dairy: _____		Veterinarian: _____		Date: _____		
Animal ID/Tag: _____		Animal Birthdate: _____		Body Condition Score (1-5): _____		
Lactation Number: _____		Lactating <input type="checkbox"/> Days in Milk: _____		or Dry <input type="checkbox"/> Days Dry: _____		
Open <input type="checkbox"/> Pregnant <input type="checkbox"/> Days Pregnant: _____						
Relevant area of management affecting this outcome (i.e. nutrition, worker training, facilities, pen moves, etc.): _____						
Specific management factor considered accountable for this death, if any (i.e. manager on vacation, etc.): _____						
<b>HISTORY and TREATMENTS</b> If down prior to death, approx. how many days? _____ Natural death <input type="checkbox"/> Euthanasia <input type="checkbox"/> If euthanized, how: captive bolt and exsanguination <input type="checkbox"/> euthanasia solution IV <input type="checkbox"/> exsanguination only <input type="checkbox"/> gun shot <input type="checkbox"/> other (specify) _____ All relevant health events: Date(s) _____ <input type="checkbox"/> Clinical mastitis (abnormal milk and/or inflamed udder) # of quarters _____ <input type="checkbox"/> organism(s) isolated? _____ <input type="checkbox"/> Milk fever <input type="checkbox"/> Ketosis <input type="checkbox"/> Lameness <input type="checkbox"/> Respiratory problems <input type="checkbox"/> Diarrhea > 48 hours <input type="checkbox"/> Melena: ulcers/HBS <input type="checkbox"/> Abortion <input type="checkbox"/> Retained placenta (more than 24 hours post-partum) <input type="checkbox"/> Dystocia calf: <input type="checkbox"/> dead <input type="checkbox"/> alive <input type="checkbox"/> twins pull: <input type="checkbox"/> easy: one person <input type="checkbox"/> moderate: two people <input type="checkbox"/> hard: mechanical help caesarian or fetotomy <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Metritis <input type="checkbox"/> Displaced abomasum left: <input type="checkbox"/> right: <input type="checkbox"/> right torsion <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Neurological problems <input type="checkbox"/> Other (specify) _____		Specify treatments for selected health event(s): Date(s) _____ <input type="checkbox"/> No treatment <input type="checkbox"/> Antibiotics: IM <input type="checkbox"/> IV <input type="checkbox"/> SC <input type="checkbox"/> Penicillins <input type="checkbox"/> Tetracyclines <input type="checkbox"/> Cephalosporins <input type="checkbox"/> Macrolides <input type="checkbox"/> Sulfonamides <input type="checkbox"/> Florfenicol <input type="checkbox"/> Other (specify) _____ <input type="checkbox"/> Intramammary antibiotics <input type="checkbox"/> Intrauterine antibiotic/flush <input type="checkbox"/> Antiinflammatories <input type="checkbox"/> IV fluids/electrolytes <input type="checkbox"/> Oral fluids/electrolytes <input type="checkbox"/> Vitamins <input type="checkbox"/> Hoof block/trim <input type="checkbox"/> Surgical intervention Abomasopexy: laparotomy <input type="checkbox"/> toggle <input type="checkbox"/> Exploratory laparotomy <input type="checkbox"/> Caesarian section <input type="checkbox"/> Test amputation <input type="checkbox"/> Claw amputation <input type="checkbox"/> Other (specify): _____ <input type="checkbox"/> Other tx (specify): _____ Comments: _____		<b>NECROPSY FINDINGS</b> Organ systems and body cavities (check <input type="checkbox"/> if abnormal/relevant) No abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Udder</b> abscess <input type="checkbox"/> tumor <input type="checkbox"/> supramammary Ln. enlarged <input type="checkbox"/> udder rot/ulcerative lesion <input type="checkbox"/> mastitis <input type="checkbox"/> mammary vein rupture <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Eyes</b> conjunctivitis <input type="checkbox"/> corneal lesion: IBK/pink eye <input type="checkbox"/> corneal lesion: diffuse corneal edema <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Oral cavity</b> wooden tongue <input type="checkbox"/> lumpy jaw <input type="checkbox"/> ulceration <input type="checkbox"/> raised proliferative lesions <input type="checkbox"/> pharynx/retropharyngeal cellulitis <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Trachea</b> necrotic laryngitis <input type="checkbox"/> tracheitis <input type="checkbox"/> fibrinonecrotic pseudomembrane <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/>		<b>Esophagus</b> trauma <input type="checkbox"/> erosions/ulcers <input type="checkbox"/> choke material <input type="checkbox"/> bloat line <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Lungs</b> bronchopneumonia: acute <input type="checkbox"/> bronchopneumonia: abscessed <input type="checkbox"/> fibrinous pleuropneumonia: <input type="checkbox"/> acute interstitial pneumonia: <input type="checkbox"/> embolic pneumonia/abscessation: <input type="checkbox"/> aspiration pneumonia <input type="checkbox"/> parasitic pneumonia: <input type="checkbox"/> lymphoma <input type="checkbox"/> arterial/vascular thrombosis <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/> <b>Heart</b> pericarditis <input type="checkbox"/> fibrinous pericarditis <input type="checkbox"/> endocarditis <input type="checkbox"/> septal defect <input type="checkbox"/> thrombus <input type="checkbox"/> dilated right ventricle <input type="checkbox"/> myocarditis <input type="checkbox"/> aneurysm <input type="checkbox"/> neoplasia <input type="checkbox"/> other (specify) _____ no abnormalities noted <input type="checkbox"/>

**Figura 30.** Hoja tipo de recogida de datos (McConnel *et al.*, 2010).

La necropsia también permite recoger muestras de calidad adecuada, tanto para realizar estudios de tipo microbiológico o histológico para confirmar el diagnóstico presuntivo que nos sugieran las lesiones, como para investigaciones o trabajos científicos (Nietfeld, 2010).

Por último, es importante mencionar la necesidad de garantizar la bioseguridad dado el riesgo al que se exponen los veterinarios que realizan la necropsia, puesto que varios de los agentes etiológicos microbiológicos de neumonía son de carácter zoonótico, habiendo casos documentados recientemente, como el contagio accidental de tuberculosis producido en el personal veterinario que había manipulado durante la necropsia un paciente positivo a *Mycobacterium tuberculosis* en la Universidad de Berna en 2011 (Posthaus *et al.*, 2011).

#### 1.4.2.1.3.2. Monitorización *postmortem* en matadero

Un método de diagnóstico epidemiológico y patológico que a menudo se pasa por alto es la monitorización de lesiones en el matadero para conocer la situación de la explotación (presencia de enfermedades y resultado de los tratamientos preventivos y terapéuticos instaurados), lo que es beneficioso tanto para los veterinarios como para el personal de los cebaderos (Rezac *et al.*, 2014).

La evaluación y registro de la presencia de lesiones pulmonares y adherencias permite, por un lado, evaluar los resultados del protocolo diagnóstico y terapéutico y, por otro, detectar casos de enfermedad que hayan pasado desapercibidos cuando el animal estaba vivo, ya que unificando la información de granja junto con la de las lesiones observadas en matadero se pasa de un 62% de sensibilidad en el diagnóstico hasta un 89,7% (White y Renter, 2009), tal y como propuso Bryant (Bryant *et al.*, 1999). Esta información es de gran importancia ya que, como hemos comentado previamente, la presencia de lesiones pulmonares supone un retraso en el crecimiento de los animales (Bryant *et al.*, 1999)

De modo que la presencia y la gravedad de las lesiones pulmonares registradas *postmortem* se puede utilizar además como un indicador para evaluar la prevalencia de los problemas respiratorios en los lotes de terneros de cebo (Leruste *et al.*, 2012), mejorándose la precisión de los resultados cuando es posible combinar esta información con la de los tratamientos recibidos (Thompson *et al.*, 2006).

Existen en la bibliografía varias clasificaciones para valorar los pulmones tras el sacrificio (Bryant *et al.*, 1999; Leruste *et al.*, 2012; Thompson *et al.*, 2006), pero fundamentalmente podemos dividirlos en dos:

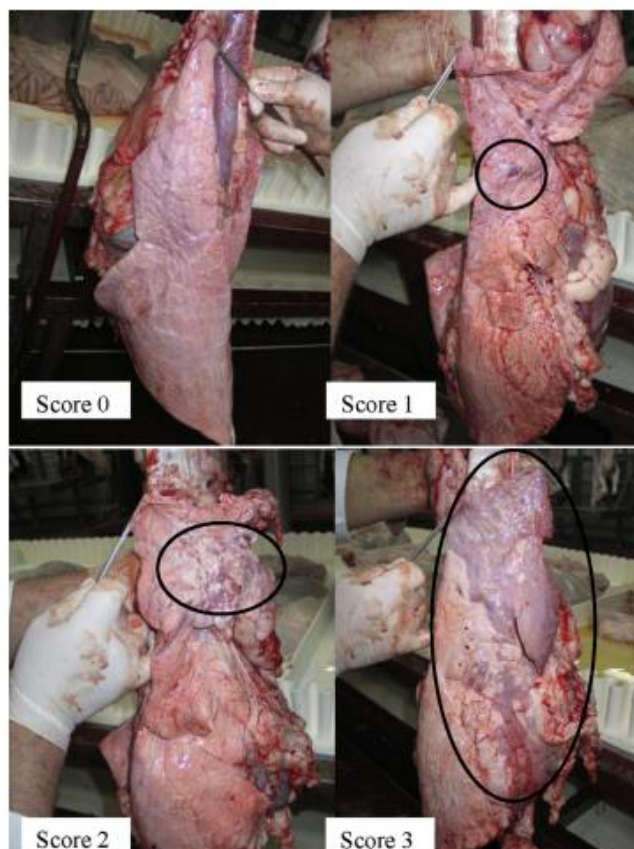
**Clasificación de Thompson o Bryant modificada:** donde se puntúa por un lado el pulmón y por otro la pleura.

- Se puntúa cada lóbulo pulmonar utilizando una **escala de 3 puntos**, con una puntuación de **0** cuando no hay lesiones visibles o palpables o bien sólo hiperemia moderada de los lóbulos craneo-ventrales pero sin consolidación; de **1** cuando existe una consolidación hasta del 50% del lóbulo craneo-ventral; y de **2** cuando existe una consolidación del 51-100% del lóbulo craneo-ventral.
- Se clasifican también las adherencias pleurales en una **escala de 3 puntos**, con una puntuación de **0** cuando no hay adherencias ni pleuritis; de **1** cuando hay adherencias o pleuritis pero que afectan menos del 50% de la superficie pulmonar o pleural; y de **2** cuando hay adherencias o pleuritis pero que afectan a más del 50% de la superficie pulmonar o pleural.



**Clasificación de Leruste:** donde se puntúa cada pulmón utilizando una **escala de 4 puntos** (figura 31):

- con una puntuación de **0** para los pulmones sanos (de color naranja pálido sin signos de neumonía),
- de **1** para las lesiones mínimas (una mancha de coloración rojo-gris),
- de **2** para los casos leves o lesiones moderadas (una mancha más grande o varias pequeñas de coloración gris-rojo con una superficie total de menos de un lóbulo),
- y de **3** para lesiones graves (área con decoloración gris-rojo de al menos un lóbulo completo y/o presencia de abscesos).



**Figura 31.** Clasificación de lesiones pulmonares de Leruste.

Ya en la década de los 80, el 17% de los terneros evaluados *postmortem* mostraban lesiones pulmonares extensas (Van der Mei y Van den Ingh, 1987).

Todos estos resultados sugieren que tanto los signos clínicos como la inspección *postmortem* de las lesiones pulmonares se deben incluir en la monitorización del bienestar de los terneros de cebo (Leruste *et al.*, 2012).

1. Tanto para la necropsia como para la inspección en mataderos es muy útil el reconocimiento de los patrones pulmonares más frecuentes (punto 1.3.2) ya que, aunque no son patognomónicos, nos dirigen en muchos casos a la comprensión de la patogenia de los distintos tipos de neumonía; lo que es importante para el diagnóstico y la interpretación correcta de las lesiones (Panciera y Confer, 2010).

#### **1.4.2.2. Métodos diagnósticos que requieren toma de muestras**

Este tipo de métodos dependen, para obtener un resultado, del análisis de una muestra, que puede ser de muy diferente naturaleza. El resultado por tanto, dependerá de la calidad de la muestra tomada y de la perfecta ejecución de la técnica requerida para obtenerla, por lo que vamos a repasar en primer lugar las tomas de muestras biológicas requeridas más frecuentemente en el ganado vacuno para el diagnóstico del SRB, tanto *in vivo* como *postmortem*. A continuación, revisaremos de manera escueta las principales pruebas laboratoriales.

##### **1.4.2.2.1. Toma de muestras biológicas *in vivo***

La elección de qué muestras tomar en condiciones de campo debe responder a criterios diagnósticos pero también debe depender de la calidad de las muestras que vamos a obtener y a criterios puramente económicos (Cooper y Brodersen, 2010).

Las precauciones a considerar varían con la clase de muestra, temperatura ambiente, transporte y duración del viaje. Debemos tener en cuenta que cuanto antes llegue la muestra al laboratorio más probabilidades tendremos de alcanzar un diagnóstico correcto (Griffin, 2012).

##### **1.4.2.2.1.1. Muestras de sangre**

Las muestras de sangre son de las más habituales que solemos tomar en condiciones de campo, especialmente a partir de animales vivos y a partir de **sangre venosa**, generalmente desde la vena coccígea por su fácil acceso y mínima necesidad de inmovilización del animal. Estas muestras suelen destinarse fundamentalmente para realizar analíticas sanguíneas que incluyen hemograma completo, determinación de proteínas como las de fase aguda, serología o virología e incluso gasometría, aunque en este último caso debe tomarse **sangre arterial**, recomendándose generalmente que sea desde la arteria carótida, aunque dada su dificultad hay estudios que validan otros vasos como la arteria safena (Donawick y Baue, 1968), la arteria braquial (Fisher, 1956), la arteria carótida (McClymont, 1950), e incluso la arteria coccígea ventral (Gustin *et al.*, 1988b), especialmente en terneros de corta edad (Uystepuyst *et al.*, 2000).

#### 1.4.2.2.1.2. Hisopos nasales o nasofaríngeos

Una de las muestras *in vivo* más habituales abordándose los procesos neumónicos son los **hisopos nasales y nasofaríngeos**. La diferencia entre ambos viene definida por la longitud del hisopo, de modo que la torunda incide a nivel de la mucosa nasal o de la mucosa nasofaríngea. Es una prueba sencilla de obtener y la maniobra para una adecuada toma de la muestra sin contaminación es fácil en condiciones de campo. Los resultados nos dan información de la población microbiológica de las vías respiratorias altas, por lo que el aislamiento bacteriano o la ausencia de crecimiento a partir de estas muestras es una información de significado cuestionable. La ausencia de crecimiento puede suponer un falso negativo y la presencia de crecimiento bacteriano puede denotar simplemente que ha crecido flora que habita en las vías respiratorias altas pero no tiene por qué estar dando lugar a enfermedad (Allen *et al.*, 1991). No obstante, existen estudios que muestran que aislamientos importantes de *M. haemolytica*, *P. multocida* o *M. bovis* a partir de hisopos nasofaríngeos pueden ser un fiel reflejo de la presencia de estos gérmenes en el pulmón (Godinho *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2015). Por otro lado, la información de detección vírica obtenida a partir de hisopos nasales en terneros se ha utilizado en Irlanda para establecer los patrones estacionales de mayor incidencia (casi un 40% de aislamientos positivos) para poder tomar así decisiones sobre el mejor momento para la prevención de la enfermedad (O'Neill *et al.*, 2014).

Por otro lado, evitaremos falsos negativos si realizamos la prueba a animales no tratados y dentro de los dos primeros días del proceso clínico (Cooper y Brodersen, 2010). A partir de este tipo de muestras podremos realizar cultivo microbiológico, virología y/o aplicar técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tanto simple como múltiple.

#### 1.4.2.2.1.3. Lavado bronquial y transtraqueal

Otro método *in vivo* que parece despertar bastante interés durante los últimos años en Europa es el **lavado bronquioalveolar** (BAL, por sus siglas en inglés) o **transtraqueal** (TTW, por sus siglas en inglés). La diferencia entre ambos es la vía de acceso: desde la nariz mediante una sonda o a través de la tráquea con una aguja, respectivamente. Como ya se ha explicado, también es posible realizar el lavado mediante broncoscopia (Prohl *et al.*, 2014).

Comparando el BAL y el TTW, parece existir una menor frecuencia de muestras con contaminación mediante el segundo método, aunque los resultados son muy similares trabajando en condiciones de higiene aceptables y el BAL es menos invasivo. El BAL se describió en terneros en 1983 (Fogarty *et al.*, 1983).

Parece haber acuerdo en que el TTW y el BAL son útiles para el diagnóstico de las enfermedades de las vías respiratorias pero pueden no ser tan útiles para la enfermedad intersticial (Burgess, 2009). El BAL está indicado en casos sospechosos de enfermedad difusa y TTW es más útil para la enfermedad localizada y para la

recogida de muestras para cultivo bacteriano. No obstante, se describen problemas a la hora de interpretar los resultados de manera similar a los que se describían con los hisopos (Burgess, 2009).

De hecho, hay estudios que dan cifras de que incluso el 63% de los terneros sanos dan resultados positivos en los cultivos bacterianos a partir de fluido obtenido por BAL (Angen *et al.*, 2009) aunque otra interpretación es que se trata de animales potencialmente enfermos, ya infectados pero que aún no muestran signos clínicos (Pringle *et al.*, 1988). También se han encontrado resultados muy similares en terneros en cebo intensivo con y sin signos de neumonía con recuentos normales de células de la serie blanca en el 35 y 40% de los casos, respectivamente (Allen *et al.*, 1991). La única diferencia entre animales sanos y con neumonía que se observó en este estudio fue una mayor proporción de neutrófilos en los enfermos y una mayor proporción de macrófagos y linfocitos en los controles en el fluido obtenido. De hecho, en la Universidad de Wisconsin Madison el protocolo de BAL incluye unos sencillos parámetros de interpretación también basados en la proporción de macrófagos y neutrófilos, considerándose anormal aquellos fluidos obtenidos con una reducción de  $\leq 60\%$  de macrófagos o una elevación de  $\geq 40\%$  de neutrófilos respecto de los valores considerados normales (McGuirk y Peek, 2007), asumen como anormal cualquier crecimiento de *Mycoplasma bovis* a este nivel.

Las muestras obtenidas mediante TTW han demostrado ser un medio eficaz para la determinación de patógenos bacterianos respiratorios en terneros (Espinasse y Alzieu, 1991). Sin embargo, estas muestras de diagnóstico no se obtienen fácilmente en condiciones de campo y requieren de un procesamiento laboratorio relativamente rápido para asegurar una adecuada interpretación.

Al igual que en el caso de los hisopos, se evitan falsos negativos si la prueba se efectúa sobre animales no tratados y dentro de los dos primeros días del proceso clínico (Cooper y Brodersen, 2010). Por último, mediante este tipo de muestras, además de las pruebas laboratoriales citadas para los hisopos, podemos realizar citologías.

#### **1.4.2.2.2. Toma de muestras *postmortem***

La toma de muestras *posmortem*, como la necropsia, debe realizarse lo antes posible tras la muerte del animal. Siempre que sea factible, es importante seleccionar animales preferiblemente no crónicos y no tratados previamente, para no limitar los resultados de análisis microbiológico de las muestras (Cooper y Brodersen, 2010).

Cuando la muestra de tejido es obtenida *postmortem*, la probabilidad de que la muestra se contamine o de que el crecimiento obtenido no se corresponda con el agente que inició la enfermedad es mayor, por lo que las muestras para **cultivo microbiológico** deben ser las primeras que se recojan y con las máximas condiciones de esterilidad, en recipientes plásticos estériles y con envío inmediato al laboratorio (Cooper y Brodersen, 2010).

Si muestreamos para obtener un resultado de **virología**, las condiciones serán similares (Cooper y Brodersen, 2010). No obstante, algunos virus son muy sensibles a determinadas condiciones, dando lugar a aislamientos falsamente negativos. Por ejemplo, debido al medio de transporte de la muestra que afecta a la viabilidad del virus (West y Bodgan, 1998).

Para determinación de **parásitos respiratorios**, deberemos tener la precaución de refrigerar la muestra rápidamente.

Cuando el muestreo va destinado a **histopatología** o **inmunohistoquímica**, es de vital importancia que el tejido esté totalmente en contacto con una dilución de formalina al 10% (Griffin, 2012), tal y como se indica en la tabla 11, para lo que no debemos elegir muestras demasiado grandes o envases demasiado pequeños.

Las muestras destinadas a **diagnóstico molecular** se alteran con cierta facilidad debido a la autólisis o a la contaminación bacteriana, por lo que deben tomarse lo más rápido posible y refrigerarse o ultracongelarse para su envío y conservación (Blanchard, 2000).

**Tabla 11.** Indicaciones para la remisión de los principales tejidos para el diagnóstico *postmortem* de SRB. (Adaptado de Cooper y Brodersen, 2010)

TIPO DE MUESTRA	INDICACIÓN
Pulmón	Fijar en formalina, 3-4 muestras, tomados desde el margen afectado hasta zona sana, con unos 5 mm de grosor
Pulmón	En fresco, tomar 2 muestras de unos 200 g (6 cm x 6 cm x 6 cm)
Suero	3-5 ml (desuerar y refrigerar a 4°C)
Ganglios traqueales y mesentéricos	Fijados en formalina y en fresco

Para una adecuada toma, conservación y envío de las muestras de necropsia al laboratorio es indispensable, según Griffin (Griffin, 2012):

- Remitir cada muestra perfectamente identificada.
- Enviar junto con la muestra el informe de la necropsia.
- Utilizar material limpio y seco, y envases irrompibles, herméticos y de dimensiones adecuadas.
- Realizar el envío de la muestra en un embalaje triple que garantice la bioseguridad.

### 1.4.3. Pruebas laboratoriales

En las pruebas laboratoriales debemos diferenciar dos tipos de técnicas: las destinadas a la detección de antígenos como ELISA (del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) directo, PCR o aislamiento viral en exudados respiratorios (hisopos nasales, lavados broncoalveolares, etc.) y las destinadas a la detección de anticuerpos como ELISA indirecto en suero sanguíneo. Las primeras metodologías detectan la presencia del patógeno en la muestra, mientras que las segundas sólo nos indican que el animal ha estado en contacto en algún momento con el patógeno y que ha reaccionado inmunológicamente frente a él.

Sin embargo, dada la etiología multifactorial del SRB y la ubicuidad de los agentes patógenos implicados en el mismo, su identificación laboratorial y la evidencia del contacto previo no asegura la presencia de enfermedad, sólo la presencia del germen (Fulton y Confer, 2012).

Por otro lado, otra desventaja de estas técnicas es el tiempo y el coste. Las diferentes técnicas requieren unos 10 días entre el envío de la muestra y la recepción de los resultados, por lo que difícilmente pueden ser utilizadas a la hora de tratar un animal individual. Además, el coste analítico, al que se suman los costes asociados a la toma de muestras, manejo, envío y otros hace inviable en la práctica el análisis sistemático de todos los animales. Sin embargo, sí puede ser una herramienta de apoyo al diagnóstico de rebaño a través de muestreos de grupos representativos y rutinarios (Duff y Galyean, 2007).

#### 1.4.3.1. Analítica sanguínea: hemograma y proteínas

La analítica sanguínea no suele ser una herramienta diagnóstica utilizada habitualmente en el SRB debido a lo poco concluyentes que son sus resultados. Las proteínas de fase aguda se han estudiado más, tanto desde el punto de vista diagnóstico como pronóstico, aunque hoy día siguen sin tener una aplicación práctica en la clínica diaria de los grandes cebaderos (Humblet *et al.*, 2004).

##### 1.4.3.1.1. Hemograma

Aunque no se trate de una ciencia exacta, hay algunas indicaciones que nos ayudarán a interpretar la enfermedad (González-Martín y Pérez-Villalobos, 2015; Jones y Allison, 2007).

- En las infecciones víricas se describe leucopenia con linfopenia, pero normalmente esta fase del SRB suele pasar desapercibida.
- En fases clínicas de SRB lo más frecuente son animales con neumonía bacteriana. En casos de pasterelosis, como en otras infecciones bacterianas supurativas, es de esperar leucocitosis con neutrofilia y linfocitosis, sobre todo

en los casos crónicos. Sin embargo, también es posible detectar recuentos normales de glóbulos blancos e incluso neutropenia y linfopenia, como en los casos agudos de neumonía, por lo que la interpretación del hemograma no es esclarecedora. Por ello siempre hay que acompañar el leucograma con el análisis de las proteínas, albúminas y globulinas, y las proteínas de fase aguda.

- La hiperproteinemia por aumento de las globulinas y el fibrinógeno también es muy significativa, especialmente en los casos crónicos.
- La endotoxemia característica de las bacterias Gram-negativas es especialmente notable en infecciones por *P. multocida* y por *H. somni*. En el leucograma, la endotoxemia aguda produce leucopenia con neutropenia y linfopenia especialmente en las primeras 48 horas. Los neutrófilos por salida prematura de la médula ósea muestran un aumento en la proporción de neutrófilos más jóvenes (neutrófilos en banda), incluso de metamielocitos y mielocitos neutrófilos, lo que se conoce como “desviación a la izquierda” de la fórmula. También, a menudo, se observan neutrófilos con un citoplasma característico, basófilo y vacuolado, con aspecto espumoso que se denominan “neutrófilos tóxicos”. Los neutrófilos en banda y el citoplasma tóxico no se puede evidenciar en contadores automáticos y sólo pueden ser vistos en un examen microscópico de la extensión o frotis sanguíneo adecuadamente teñido. Por esto, el examen microscópico efectuado por profesionales experimentados es el método de elección en el bovino.
- En plasma se observa hipoglucemia, hipocalcemia, hipomagnesemia, hipopotasemia e hiperuremia. En los casos agudos hay hipoproteinemia pero con el tiempo y especialmente en los casos crónicos hay hiperglobulinemia y elevación del fibrinógeno, aunque este último puede descender por agotamiento del mismo.

#### **1.4.3.1.2. Proteínas de fase aguda (PFA):**

Las proteínas de fase aguda (PFA), incluyendo el suero amiloide-A, la haptoglobina, el fibrinógeno, y la glicoproteína- $\alpha_1$ , se producen y secretan por el hígado como parte de la respuesta de fase aguda frente a la lesión tisular. Las PFA indican inflamación, ya sea crónica o aguda, por lo que podrían revelar la presencia de la infección antes de la aparición de los propios signos clínicos (Humblet *et al.*, 2004). Las PFS se han evaluado clínicamente en terneros enfermos para diferenciar entre la inflamación aguda y la crónica (Horadagoda *et al.*, 1999). En ese estudio citado, se encontró una alta concentración de suero de amiloide A sérico en el 100% de los casos agudos y el 54% de los casos crónicos; además, encontraron concentraciones altas de haptoglobina en suero en el 68% de los casos agudos y en el 24% de los casos crónicos; así como concentraciones altas de glucoproteína  $\alpha_1$  en el 89% de los casos agudos y en el 72% de los casos crónicos.

El **fibrinógeno** es el precursor de la fibrina y un marcador inespecífico de inflamación. Se ha demostrado su elevación con la inyección experimental de trementina o endotoxina, y clínicamente con pericarditis y peritonitis (Eckersall, y Conner, 1988). También se ha encontrado elevado en los terneros después del transporte (Arthington *et al.*, 2003).

Varios estudios han sugerido que la **haptoglobina** podría ser un marcador útil para el SRB en cebaderos. Se ha visto cómo se elevan los niveles de haptoglobina sérica en terneros en mercados de subastas respecto de los observados en aquéllos que son destetados y mantenidos en la explotación de origen durante 45 días antes de entrar en el cebadero (Step *et al.*, 2008). También se ha demostrado que las concentraciones de haptoglobina sérica son mayores en terneros con SRB en comparación con animales sanos (Godson *et al.*, 1996), así como en aquellos terneros que requieren más de un tratamiento de SRB (Berry *et al.*, 2004; Carter *et al.*, 2002). Por otro lado, una alta concentración de haptoglobina en suero se ha asociado a una mayor tasa de mortalidad (Carter *et al.*, 2002; Godson *et al.*, 1996). Hay, sin embargo, estudios donde la concentración de haptoglobina sérica resultó ser un marcador útil para la respuesta al tratamiento en los animales tratados frente a SRB, ya que los animales que continuaban enfermos presentaban una concentración significativamente menor que los sanos (Wittum *et al.*, 1996). Además, este estudio sugería que la haptoglobina sérica era un indicador inespecífico de enfermedad.

En un estudio realizado en Finlandia, se evaluaron terneros con enfermedad respiratoria producida por patógenos específicos y se asociaron éstos a determinadas elevaciones de PFA (Nikunen *et al.*, 2007). Este estudio mostró que la presencia de *P. multocida* se asoció significativamente ( $P < 0,05$ ) a una elevación de proteínas de fase aguda incluyendo fibrinógeno, haptoglobina, suero amiloide-A, y  $\alpha 1$ -glicoproteína. Sin embargo, no hubo asociación entre patógenos virales o entre *Fusobacterium necrophorum* y *Actinomyces pyogenes* y estas proteínas. En este estudio no se aisló *M. haemolytica*.

#### 1.4.3.2. Gasometría

Se trata básicamente de una medición de la presión de oxígeno ( $pO_2$ ) y de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ) presentes en la sangre, así como la concentración de bicarbonato ( $HCO_3$ ) y el pH de la misma, que se debe analizar a una temperatura de 37°C, por lo que se realiza una corrección en función de la temperatura del animal en el momento del muestreo (Gustin *et al.*, 1988; Kelman y Nunn, 1966).

Es por tanto una prueba laboratorial que, aunque aporta información interesante para distinguir entre los estadios más iniciales del SRB según autores (Bureau *et al.*, 1999a, 1999b; Reinhold *et al.*, 1998), ofrece diversas complicaciones para su realización, mucho más en condiciones de campo. Esto es debido a que su análisis es caro, requiere de inmediatez y además ofrece mucha variabilidad en función del vaso de donde se obtiene la muestra, al menos, en el caso del ganado bovino (Gustin *et al.*, 1988a).



Lo más frecuente es usar las arterias auriculares (Verhoeff y Wierda, 1983), aunque existen estudios con muestras obtenidas desde la arteria safena (Donawick y Baue, 1968), la arteria braquial (Fisher, 1956; Lekeux *et al.*, 1984), la arteria carótida (McClymont, 1950), e incluso la arteria coccígea ventral (Gustin *et al.*, 1988b). Sin embargo, los valores de tensión de oxígeno obtenidos de vasos periféricos suelen ser anormalmente bajos como los 77 mm de Hg obtenidos desde la arteria coccígea (Vestweber *et al.*, 1977) en terneros sanos, frente a 99,7 mm de Hg en arteria carótida (Kuhlman *et al.*, 1985), siendo la arteria carótida la más recomendable aunque, por otro lado, de las menos accesibles (Gustin y De Groote, 1988). Un estudio reciente muestra cómo la pCO<sub>2</sub> aumenta con el número de tratamientos (Burciaga-Robles *et al.*, 2009).

#### 1.4.3.3. Serología

En el caso de la **serología**, lo que se determina es la presencia de anticuerpos para los patógenos específicos, por lo que tan sólo nos aporta información del “historial de exposición” del animal o el rebaño (Fulton y Confer, 2012). Ahora bien, si repetimos la serología entre los 10 y los 14 días posteriores y encontramos un aumento de la positividad sí podremos afirmar que ha habido un “contacto” con la enfermedad en un periodo de tiempo reciente, deducido de esta seroconversión (Tyler y Cullor, 1989).

En un estudio realizado en 1992 por Allen y colaboradores, los títulos frente al virus de la parainfluenza bovina tipo 3 (PI-3), el virus DVB, el virus respiratorio sincitial bovino (VRSB) y el herpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1), no fueron diferentes entre casos y controles, con una seroconversión similar en ambos grupos, con la excepción del virus PI-3, que fue más frecuente en los controles (Allen *et al.*, 1991).

La serología puede ser eficaz para determinar infecciones por *M. bovis*, especialmente en aquellos animales con enfermedad crónica y aquéllos que han sido tratados previamente, donde el cultivo microbiológico puede verse afectado (Caswell y Archambault, 2008).

Por tanto, la serología asociada a la valoración de signos clínicos puede ser indicativa de infección por un microorganismo específico y podría ser utilizada en los cebaderos. Además, es una técnica interesante a la hora de valorar la respuesta vacunal, aunque los títulos de anticuerpos no siempre permiten diferenciar entre animales vacunados y enfermos, ni damos una información fiable de la presencia de enfermedad (Fulton y Confer, 2012).

#### 1.4.3.4. Virología

El aislamiento viral se puede llevar a cabo a partir de muestras de suero o tejidos. Como se explicaba en la toma de muestras, el transporte y conservación de éstas limita mucho los resultados de esta prueba, y por otro lado, es frecuente tener que amplificar las muestras hasta el punto de no ser posible la determinación sin recurrir a técnicas de diagnóstico molecular. También hay que tener en cuenta que algunos virus muestran efectos citopáticos que suelen ser evidentes dentro de los primeros 2-10 días (Fulton y Confer, 2012).

Por ello, este método de diagnóstico puede ser más útil para medir la incidencia o prevalencia poblacional o, posiblemente, en una situación de brote para la identificación del virus principal (Burgess, 2009).

#### 1.4.3.5. Cultivos microbiológicos

Los cultivos microbiológicos permiten detectar bacterias y virus de manera económica, con la ventaja de que, dependiendo del tipo de muestra, pueden darnos información de infección activa directamente desde la lesión e incluso pueden facilitarnos datos sobre resistencia o sensibilidad antimicrobiana. Por el contrario, en función del agente etiológico, pueden tardar demasiado tiempo en aportar resultados y finalmente, otra desventaja es que la sensibilidad se ve gravemente afectada por las infecciones concomitantes y los tratamientos antimicrobianos (Fulton y Confer, 2012).

En el estudio previamente citado de Allen y colaboradores, no pudieron predecir los resultados de la citología realizada a partir de un BAL en animales individuales mediante cultivo bacteriano a partir de exudado nasofaríngeo pero sí obtuvieron resultados similares y válidos a nivel de rebaño (Allen *et al.*, 1991). Sin embargo, en otro estudio donde se realizaron aislamientos tanto en hisopos nasales como en TTW, la correlación entre ambos aislamientos fue del 96% (De Rosa *et al.*, 2000).

Por otro lado, según otros estudios, el cultivo positivo de *P. multocida* a partir de hisopos y BAL se asocia con una alta morbilidad de enfermedad respiratoria (Allen, Viel *et al.* 1991), al igual que los crecimientos de *M. haemolytica* y *M. bovis* se asocian a enfermedad con una correlación del 86% y el 100%, respectivamente (Godinho *et al.*, 2007).

A pesar de estos datos, debe tenerse precaución en la interpretación de los resultados, ya que un cultivo bacteriano positivo a partir de un hisopo nasal o de un lavado no es necesariamente indicativo de microorganismos dentro del pulmón (Caswell y Archambault, 2008; Thomas *et al.*, 2002). De hecho, los cultivos bacterianos parecen tener menor sensibilidad que otras técnicas como la inmunohistoquímica (IHC) o la PCR (Tegtmeier *et al.*, 2000).

#### 1.4.3.6. Histopatología e inmunohistoquímica (IHC)

La **histopatología** nos aporta información estructural sobre el tipo de lesión (edema, enfisema, atelectasia) e incluso de si se trata de un proceso agudo o crónico, aunque las lesiones no tienen por qué ser patognomónicas de agente causal (Caswell *et al.*, 2012). Para lograr la identificación final del agente se debe recurrir a la **inmunohistoquímica**, capaz de detectar antígenos desde la lesión aunque su sensibilidad y especificidad son muy variables (Fulton y Confer, 2012).

La **inmunohistoquímica** (IHC) es una técnica que utiliza anticuerpos específicos para visualizar la distribución de los epítomos inmunogénicos en determinadas secciones de tejido. Es un método directo de detección de antígeno. La IHC se utiliza comúnmente en el diagnóstico de enfermedades infecciosas en medicina veterinaria. Es una técnica que puede identificar rápidamente muchos agentes infecciosos como bacterias, virus y protozoos. Puede ser utilizada para aislar organismos que no se cultivan con facilidad y desde la misma muestra de tejido que el utilizado para la evaluación histológica (Haines y West, 2005).

No obstante, no siempre es fácil determinar el organismo causal, especialmente en animales crónicos. Por ejemplo, en un estudio realizado en ganado de cebo con neumonía crónica, el 10% (5 de 49) fueron IHC negativo para *M. bovis*, *H. somni*, *M. haemolytica* y virus DVB, de los cuales el 40% (2 de 5) tenía lesiones visibles (Haines *et al.*, 2001).

Por tanto, la IHC es una herramienta diagnóstica que puede proporcionar no sólo información sobre los microorganismos presentes en el tejido, sino también sobre la histopatología, aunque como siempre, hay márgenes de error y dificultades en la interpretación.

#### 1.4.3.7. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método usado para la amplificación *in vitro* de una secuencia de ADN específica. La amplificación permite la identificación de muy pocas copias de ADN en una muestra y sólo requiere que el fragmento de ADN a replicar esté intacto, aunque los microorganismos no sean viables. En la actualidad, gracias al abaratamiento de las técnicas de amplificación molecular, es una de las técnicas diagnósticas más empleadas.

Es capaz de detectar regiones concretas del genoma de los agentes patógenos a partir de una mínima cantidad de material biológico a partir de cualquiera de los tipos de tejido y muestras previamente descritas, tanto de manera específica (PCR simple) como para varios agentes a la vez (PCR Multiplex). También es posible usar esta técnica para el diagnóstico de SRB mediante dispositivos de detección rápida como las “tarjetas FTA®”, del inglés *fast technology for analysis of nucleic acids* (Liang *et al.*, 2014).

Se ha visto que la PCR es un método muy sensible para la detección de patógenos complicados de aislar como *H. somni*, en comparación con el cultivo bacteriano y la inmunohistoquímica (Tegtmeier *et al.*, 2000).

La PCR de transcripción inversa a tiempo real (RT-PCR por sus siglas en inglés) es una prueba más sensible para la detección del virus sincitial bovino en comparación con la IHC o la inmunofluorescencia (Boxus *et al.*, 2005; Willoughby *et al.*, 2008).

Aunque actualmente se ha avanzado mucho en la cuantificación del material detectado por PCR para poder dar resultados de carga bacteriana, mediante esta técnica no es posible aún diferenciar con precisión si la enfermedad está activa, es subclínica o de tipo concomitante. No obstante, la PCR parece ser un método de diagnóstico útil para la detección de patógenos en muestras de pulmón de animales de cebadero (Burgess, 2009).

#### 1.4.3.8. Otras técnicas diagnósticas menos utilizadas

Tras la infección por un agente patógeno, el animal desencadena una serie de reacciones de defensa para protegerse, idénticos sea cual sea el agente infeccioso, lo que constituye la respuesta inmune primaria o inespecífica. Entre ellos se encuentran la secreción de **hormonas relacionadas con el estrés**, siendo el cortisol la más popular. Se ha valorado en varios estudios la relación de la concentración de cortisol y el SRB (Schaefer *et al.*, 2012, 2007; Theurer *et al.*, 2013), mostrando una sensibilidad del 100% pero una especificidad de tan sólo el 53,8% (Schaefer *et al.*, 2012) en el mejor de los resultados. El cortisol también se considera un **biomarcador** adecuado, al igual que la glucosa, que al contrario del cortisol cuyas elevaciones mantenidas en el tiempo se asocian con una mayor mortalidad, cuando se eleva durante cuatro días tras una infección vírica se asocia a una mayor supervivencia del animal (Aich *et al.*, 2009).

Por otro lado, la misma muestra de sangre arterial que utilizamos para la gasometría ofrece la posibilidad de hacer otras determinaciones útiles, como por ejemplo la concentración de **lactato** en sangre, aunque para esta determinación también existen medidores portátiles que permiten su medición en condiciones de campo. La concentración de lactato parece ser un dato muy variable en el vacuno y que sólo muestra una elevación con significancia estadística en las fases más avanzadas de la enfermedad (Coghe *et al.*, 2000), y por tanto con menos interés a la hora de hacer un diagnóstico precoz. Sin embargo, otros autores defienden su uso como predictor de enfermedad y decidir en función de sus niveles un programa de metafilaxia parcial en los animales (Buczinski *et al.*, 2015b).

También se encuentran los **test de inmunofluorescencia**, que pueden llevarse a cabo en preparaciones fijadas con acetona o alcohol y que se usan en el SRB especialmente en la identificación viral, como en el caso del virus sincitial (Jerome, 2010).

Otras técnicas más sofisticadas de genética molecular y que parecen ser las que ofrecen mayores alternativas para un futuro próximo, son, por ejemplo, la **hibridación *in situ*** y la técnica de **microarray**. La técnica de **microarray** consiste en la realización de pruebas específicas de hibridación en miles de oligonucleótidos de secuencias específicas de DNA, que por ejemplo se ha usado recientemente en el diagnóstico de la pleuroneumonía bovina (Gantelius *et al.*, 2010).

## 1.5. DISPOSITIVOS AUXILIARES Y MÉTODOS NOVEDOSOS

Dada la subjetividad de los protocolos diagnósticos tradicionales basados en la exploración clínica, la identificación de los animales enfermos no es siempre todo lo precisa que debiera ser. De hecho, estudios recientes demuestran cómo estos signos clínicos no nos permiten identificar a todos los animales afectados, como es el caso del estudio llevado a cabo por Wittum, con el que evidenció que el 68% en los animales no tratados por SRB tenían lesiones pulmonares claras (Wittum *et al.*, 1996). De forma similar, Thompson describió cómo el 42,8% de los animales sacrificados presentaban lesiones pulmonares, y de éstos el 69,5% nunca habían sido tratados para SRB (Thompson *et al.*, 2006). Este fallo a la hora de detectar animales enfermos utilizando los actuales protocolos podría deberse al comportamiento presa/predador según Noffsinger, por el que los animales (ruminantes, y “presas” en su memoria genética) percibirían a los cuidadores como predadores y por ello tratarían de disimular al máximo los signos de debilidad (depresión, enfermedad, cojera, etc.); (Noffsinger *et al.*, 2014).

Además, Schaefer determinó un valor predictivo positivo, negativo y una eficiencia de los signos clínicos tradicionales del 70, 45 y 55%, respectivamente (Schaefer *et al.*, 2012). En el análisis utilizaron como diagnóstico de referencia o “Gold Standard” la presencia de al menos dos de los siguientes criterios: temperatura rectal  $>40^{\circ}\text{C}$ , recuento leucocitario menor a 7 o mayor a  $11 \times 10^3$ , puntuación clínica  $>3$  y relación neutrófilos/linfocitos  $<0,1$  o  $>0,8$ .

Todo esto ha puesto en evidencia la necesidad de identificar parámetros cuantitativos que permitan detectar los animales enfermos de forma más objetiva y precoz. Para ello, se han realizado distintos trabajos a fin de investigar nuevos parámetros o signos: medidores de consumo de pienso y agua, medidores de actividad, detectores de fiebre, termografía de infrarrojos, y *data-logger* ruminal, entre otros. Vamos a describir las principales características de algunos de los más relevantes.

### 1.5.1. Medidores de consumo

Existen varios trabajos que determinan diferencias en el patrón de consumo de agua y pienso entre animales sanos y enfermos, aunque los resultados son muy variables, especialmente en lo que se refiere al consumo de agua.

Basarab y colaboradores evaluaron en 1996 el **comportamiento de consumo de agua** en terneros durante más de dos meses (71 días), describiendo cómo este

criterio podía utilizarse en la detección precoz de animales enfermos, dado que reducían el tiempo dedicado al consumo de agua entre tres y cuatro días antes de mostrar signos clínicos de enfermedad (Basarab *et al.*, 1996). De hecho, los animales enfermos dedicaron un 23,7% menos de tiempo al consumo de agua que los sanos. Por el contrario, el grupo de Buhman expuso cómo, hasta el cuarto o quinto día tras la llegada, los animales enfermos presentaban una mayor frecuencia y duración del tiempo de bebida que los sanos (Buhman *et al.*, 2000). Sin embargo, en el estudio de Sowell y colaboradores en 1999, realizado tras la entrada de terneros a dos cebaderos de EE.UU. con un transporte previo de 27 horas en condiciones similares a numerosas entradas de nuestro país, no encontraron diferencias significativas en el tiempo dedicado al consumo de agua entre los terneros sanos y los enfermos (Sowell *et al.*, 1999).

En cuanto al patrón de **comportamiento de consumo de pienso**, éste varió significativamente ( $P < 0,02$ ) en el estudio de Sowell y colaboradores, acudiendo los terneros sanos durante los primeros cuatro días tras la entrada entre 3 y 4 veces más a la tolva que los enfermos (Sowell *et al.*, 1999). En otro estudio reciente (Wolfger *et al.*, 2015), se desarrolló un algoritmo predictivo a partir de datos de ingesta por comida (entendiendo por “comida” cada vez que el animal se acerca a la tolva y come), frecuencia diaria de las comidas, y los intervalos entre las mismas recogidos mediante radiofrecuencia, identificando animales afectados por SRB hasta 7 días antes de su detección clínica, visual.

Estos datos nos indican que el control del patrón de alimentación se puede utilizar para identificar el ganado enfermo antes.

### **1.5.2. Medidores de actividad**

Por lo general, los animales enfermos, además de disminuir el tiempo de alimentación, aumentan el tiempo de descanso (Hart, 1988).

Dispositivos tales como los monitores de localización, los podómetros y acelerómetros han evidenciado las diferencias de comportamiento entre novillas infectadas por *M. haemolytica* con síntomas leves de SRB y novillas control sanas (Theurer *et al.*, 2013), aunque no se detectaron diferencias en cuanto al efecto del tratamiento mediante los podómetros.

En otro estudio realizado por Hanzlicek donde se midieron los pasos mediante podómetros, se vio que los animales infectados por *M. haemolytica* daban un menor número de pasos y además permanecían menos tiempo de pie después de la inoculación, en comparación con momentos antes de la infección (Hanzlicek *et al.*, 2010).

### 1.5.3. Medidores de temperatura

La diferencia de temperatura corporal entre el ganado enfermo de SRB y sano se ha tomado como principio fundamental en el desarrollo de múltiples dispositivos destinados a detectar cambios en este parámetro, tales como los medidores de la temperatura timpánica mediante *ear-tags* (McCorkell *et al.*, 2014), bolos retículo-ruminales (Timsit *et al.*, 2011, 2011), cámaras termográficas que miden la temperatura orbital (Schaefer *et al.*, 2012, 2007) o nasal, mediante infrarrojos (Theurer *et al.*, 2015), o simplemente termómetros rectales de mayor precisión (Galyean *et al.*, 1995; Vogel *et al.*, 1998)

El porcentaje de los terneros afectados por SRB con temperaturas timpánicas detectadas mediante *ear-tags*, superiores a 39,8°C varió entre el 15 y el 85% en un estudio realizado en animales que entraban al cebadero (McCorkell *et al.*, 2014).

Por otro lado, en el estudio llevado a cabo por Timsit *et al.* (Timsit *et al.*, 2011), se observó que en el mismo día de la infección con *M. haemolytica* se detectaban variaciones significativas en la temperatura ruminal.

Schaefer y colaboradores, en 2007, evidenciaron que la **termografía de infrarrojos** con medición de temperatura orbital podría ser útil en el diagnóstico de SRB al mostrar cómo esta técnica era capaz de identificar fases tempranas de enfermedad (Schaefer *et al.*, 2007); incluso hasta una semana antes de iniciarse los signos clínicos. Así, la termografía demostró un valor predictivo positivo, un valor predictivo negativo y una eficiencia diagnóstica del 80%, 65% y 71%, respectivamente. Posteriormente, estos mismo autores (Schaefer *et al.* 2012) automatizaron el uso no invasivo de esta técnica en cebaderos a través de una estación de medición ubicada en el bebedero del corral. En cuanto a la medición de temperatura nasal mediante infrarrojos, según el estudio realizado por Theurer (Theurer *et al.*, 2013), la temperatura superficial del plano nasal fue mayor en animales infectados por *M. haemolytica* a las 8 y 48 horas después de la infección, y la temperatura del conducto nasal fue menor entre 14 y 18 horas después de la infección.

Por lo tanto, los cambios en la temperatura corporal asociados a SRB se pueden medir de forma fiable mediante termografía y bolos retículo-ruminales, mientras que la tecnología de medición de la temperatura timpánica parece necesitar un mayor desarrollo.

### 1.5.4. Fonendoscopia electrónica

La auscultación clásica mejora la exactitud del diagnóstico (Buczinski *et al.*, 2014) pero es necesario un veterinario experimentado para realizarla. El sistema de fonendoscopia electrónico (Whisper Veterinary Stethoscope®, Plymouth) conectado a un programa de diagnóstico *on-line* permite una clasificación objetiva de los casos clínicos en cinco niveles distintos de gravedad y puede efectuarse por cualquier persona sin formación académica (Noffsinger *et al.*, 2014). Además, en este estudio

de 2014 se aporta un punto de corte de temperatura de interés diagnóstico, por el que se estableció que los animales con una baja puntuación por auscultación y sin fiebre ( $<40,3^{\circ}\text{C}$ ), tuvieron menos enfermedad respiratoria durante el cebo. Por tanto, la auscultación puede considerarse como un buen predictor de enfermedad aunque requiere de un manejo individual de cada animal.

### 1.5.5. Toracoscopia

La toracoscopia fue descrita por primera vez hace más de 100 años por Jacobaeus, profesor de medicina en Estocolmo, quien expuso sus hallazgos endoscópicos en 2 casos de pleuritis tuberculosa en personas (Jacobaeus, 1910). Aunque en los siguientes 40 años esta técnica se orientó casi exclusivamente al tratamiento de las lesiones tuberculosas pulmonares, el mismo Jacobaeus expuso en 1925 sus posibilidades diagnósticas y terapéuticas (Jacobaeus, 1925).

A mediados de los años ochenta se empezaron a diseñar instrumentos que, además de la toma de biopsias, permitieran intervenir sobre las estructuras intratorácicas (Lee *et al.*, 2010). Cuando a finales de esa década se desarrollaron las videocámaras adaptables a los endoscopios surgieron los acrónimos VATS (del inglés *video-assisted thoracic surgery*), y CTV (del equivalente en español “cirugía video-torascópica”; Rodríguez-Panadero, 2004). Mientras que la denominada toracoscopia clásica o médica puede llevarse a cabo bajo anestesia local y con una sola entrada, la CVT en medicina humana requiere varios puntos de entrada y anestesia general. Uno de los avances más fascinantes de los últimos años radica en la posibilidad de realizar intervenciones endoscópicas con la ayuda de robots (Gerhardus, 2003; Morgan *et al.*, 2003) o en el uso de otras técnicas más sofisticadas como la toracoscopia de infrarrojos (Kasai y Yokomise, 2014).

En **medicina veterinaria**, en la actualidad, la toracoscopia es una técnica descrita y practicada fundamentalmente en pequeños animales (Anderson y St. Jean, 2008; Faunt *et al.*, 1998; García *et al.*, 1998; Lansdowne *et al.*, 2012a; Mayhew, 2013; Mayhew *et al.*, 2013; McCarthy, 1999; Monnet, 2009; Radlinsky, 2014); en parte por la tendencia a probar en especies animales las nuevas técnicas diagnósticas antes de realizarlas en humanos (Lansdowne *et al.*, 2012a). Además se ha utilizado, aunque con menor frecuencia, en los caballos (Barakzai *et al.*, 2008; Hendrickson y Wilson, 1996; Hinchcliff y Byrne, 1991; Klohnen y Peroni, 2000; Lugo y Peroni, 2007; Mackey y Wheat, 1985; Orsini, 2002; Peroni *et al.*, 2001; Relave *et al.*, 2010, 2008; Vachon y Fischer, 1998) y de manera casi anecdótica en el ganado vacuno, con dos estudios recientes que han descrito el uso de la técnica en vacas adultas sanas (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014), y un solo caso clínico de una pericardiectomía en una vaca adulta con un linfoma pericárdico (Van Biervliet *et al.*, 2006a).



### 1.5.5.1. Indicaciones de la toracoscopia

La toracoscopia está indicada como **técnica de elección** frente a la toracotomía (Miller *et al.*, 2000; Wei *et al.*, 2004, 2004) y la esternotomía (McKenna *et al.*, 2004) en los casos en que se indica la cirugía de reducción de volumen pulmonar e incluso en las pleurectomías (Vohra *et al.*, 2008) en **medicina humana**. Parece estar claro que la toracoscopia, aunque más cara, resulta menos dolorosa para los pacientes (Quandt, 1999), permitiendo una mejor recuperación y la obtención de muestras de lugares donde no es posible acceder mediante la toracotomía (Miller *et al.*, 2000).

En cuanto a la **medicina veterinaria**, sólo existen estudios similares en perros pero con conclusiones casi idénticas (Rivera Barreno *et al.*, 2004; Walsh *et al.*, 1999, 1999); destacando la mejor recuperación y la disminución del dolor provocado, aunque también se describe la existencia de situaciones en las que se indica la necesidad de pasar de una toracoscopia a una toracotomía en pequeños animales (Radlinsky, 2009).

En el **ganado vacuno**, la toracotomía se considera una técnica poco indicada aunque hay autores que opinan que podría tener una aplicación práctica para el tratamiento de abscesos pulmonares o de pleuritis que requieran de tratamiento quirúrgico (Ducharme *et al.*, 1999); sin embargo, la única evidencia científica según nuestro conocimiento es el tratamiento con éxito de un quiste intratorácico corregido por toracotomía en un ternero frisón en 2013 (Berchtold *et al.*, 2013).

Las indicaciones generales de la toracoscopia en **medicina humana** a día de hoy abarcan una multitud de intervenciones, entre las cuales las relacionadas con el aparato respiratorio serían la realización de intervenciones de pulmón (Ohtsuka *et al.*, 2004; Soletto *et al.*, 2002), en la pared torácica (Santana Rodríguez *et al.*, 2002), manejo de empiema (Kalfa *et al.*, 2004; Knudtson y Grewal, 2004), lobectomías (Licht y Ladergaard, 2010), derrame pleural de causa desconocida (Dixon *et al.*, 2015), en el tratamiento de derrames malignos recidivantes mediante pleurodesis (Agarwal *et al.*, 2013; Rodríguez-Panadero, 2004), o cualquier otra patología pleural (Noppen, 2010), ciertos traumatismos torácicos (Billeter *et al.*, 2013) y biopsia pulmonar en neumopatías intersticiales difusas, entre otras. Por el contrario, no está recomendada en pacientes con enfermedad obstructiva crónica avanzada (Rodríguez-Panadero, 2004).

En **medicina veterinaria**, el mayor abanico de indicaciones para la técnica está relacionado con pequeños animales, donde la toracoscopia está indicada en la exploración torácica y el diagnóstico de las patologías intratorácicas en general (Lansdowne *et al.*, 2012a; Mayhew, 2013; McCarthy, 1999; Schmiedt, 2009), como en neoplasias torácicas (Brisson *et al.*, 2006; Fritscher-Ravens *et al.*, 2011) o derrame pleural o pericárdico (McCarthy, 1999), lobectomías parciales o totales (García *et al.*, 1998; Lansdowne *et al.*, 2005; Peláez y Jolliffe, 2012), pericardiectomía total o parcial (Dhumeaux y Haudiquet, 2013; Dupre *et al.*, 2001; Haimel *et al.*, 2012; Jackson *et al.*, 1999), reparación de hernias diafragmáticas (Fritscher-Ravens *et al.*, 2010, 2009), corrección del conducto arterioso (Borenstein *et al.*, 2004) o del arco aórtico persistente (Isakow *et al.*, 2000; Plesman *et al.*, 2011) o la propia enfermedad pulmonar primaria (McCarthy, 1999).

En caballos encontramos también múltiples indicaciones en la bibliografía desde los años 90, tales como el diagnóstico de linfosarcoma, procesos granulomatosos, megaesófago pleuroneumonía, pericarditis séptica o hernia diafragmática (Vachon y Fischer, 1998). Del mismo modo encontramos recomendación de su uso en neumonía, pleuritis, desbridado de adherencias o tejido pulmonar no viable, lavado para pleuritis aguda o neoplasias (Lugo y Peroni, 2004). También se ha descrito la reparación endoscópica de hernias diafragmáticas (Malone *et al.*, 2001), de divertículos esofágicos intratorácicos (Ford *et al.*, 1991), en lobectomía (Peyton *et al.*, 1976), en el diagnóstico de carcinoma escamoso (Ford *et al.*, 1987), de linfosarcoma (Pollock y Russell, 2006), para la toma de muestras en las vías respiratorias bajas (Doucet y Viel, 2002) y para la realización de biopsias pulmonares (Barakzai *et al.*, 2008; Doucet y Viel, 2002; Lugo y Peroni, 2007; Relave *et al.*, 2010, 2008).

Dado el escaso desarrollo de la técnica en el **ganado vacuno**, aún no existen demasiadas indicaciones precisas, aunque dado que se ha demostrado que se pueden diferenciar la mayor parte de las estructuras intratorácicas (Scharner *et al.*, 2014), cabe suponer su recomendación en la exploración del tórax, así como para la realización de pericardiectomías, según la evidencia de un caso clínico de 2006 (Van Biervliet *et al.*, 2006) y el diagnóstico de la pericarditis traumática, en virtud de una comunicación de un caso clínico en un toro de lidia (Santos López *et al.*, 2015).

#### 1.5.5.2. El equipamiento para la toracoscopía

El equipamiento con el que se realiza esta técnica en **medicina humana** es diferente cuando se lleva a cabo una toracoscopía médica o quirúrgica (Mathur y Loddenkemper, 1995), ya que esta última requiere de un equipo que permita la doble entrada quirúrgica (una para visualizar y otra para usar con el canal de trabajo), lo que implica también mayor coste de la técnica (Tassi *et al.*, 2006).

En **medicina veterinaria** se trabaja más frecuentemente con endoscopios rígidos (en pequeños y grandes animales) y en menos ocasiones con flexibles (hasta la fecha, en pequeños animales y según algunos trabajos escasos, en caballos). Los endoscopios están clasificados por el diámetro del extremo distal y están disponibles en tamaños que van de 2,5 a 10 mm. En medicina veterinaria, el broncoscopio estándar es de unos 5 mm de diámetro y se puede utilizar en gatos y perros, salvo en casos de gatos o perros muy pequeños donde se usan los de 3 mm con excelentes resultados (Johnson, 2001; Mayhew, 2013). También en pequeños animales es frecuente usar instrumentación especial que permita tanto la toma de biopsias (pinzas y fórceps), como la eliminación de adherencias, la aplicación de suturas, la aspiración de líquido, etc. (Mayhew, 2013; Schmiedt, 2009).

En los caballos, como en el **bovino**, los endoscopios utilizados son generalmente los mismos que se usan en las laparoscopias: endoscopios rígidos de 30° y 57 cm, con un diámetro de 10 mm (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014; Vachon, y Fischer, 1998). Además, es frecuente utilizar un insuflador de CO<sub>2</sub> y elementos adicionales como fórceps y pinzas para la toma de biopsias.

### 1.5.5.3. La técnica de la toracoscopia

La realización de la técnica en **medicina humana** se lleva a cabo con un único trocar de 7 o 10 mm de diámetro (dependiendo de la amplitud de los espacios intercostales). Cuando se prefiere usar instrumental más fino (hoy día se dispone de toracoscopios de menos de 3 mm), se hace necesaria la doble entrada, introduciendo la óptica por una puerta de entrada y por otra la pinza de biopsia. No obstante, la CVT suele llevarse a cabo siempre bajo anestesia general y en posición de decúbito lateral (Quandt, 1999), con un abordaje ligeramente superior cuando además se va a biopsiar (Stoica y Walker, 2000). Sin embargo, existen publicaciones en las que se defiende la viabilidad de la CVT bajo anestesia local (Smit *et al.*, 1998; Yutaka *et al.*, 2012). El mayor problema técnico para la realización de una toracoscopia con anestesia local y en un medio no estrictamente quirúrgico en medicina humana, es la presencia de adherencias extensas entre el pulmón y la pared torácica (Rodríguez-Panadero, 2004). En medicina humana es habitual mantener también al paciente intubado con respiración asistida e introducir CO<sub>2</sub> en el tórax para una mejor visualización (Quandt, 1999).

En **medicina veterinaria** existen grandes diferencias entre la realización de la técnica en pequeños o grandes animales. En perros y gatos la técnica es mucho más parecida a la CVT explicada en medicina humana, con los animales en decúbito dorsal, esternal o lateral, en función del área de interés (Schmiedt, 2009) y anestesia general, de modo que estén preparados para la conversión a toracotomía si es necesario (Lansdowne *et al.*, 2012b), al igual que ocurre con las personas. En este tipo de animales sería posible insuflar CO<sub>2</sub> como en las personas pero se ha observado una gran depresión cardiopulmonar en los perros (Daly *et al.*, 2002), por lo que no se lleva a cabo de manera habitual

Por otro lado, **en grandes animales**, la toracoscopia médica descrita en pequeños animales es la que más se asemeja a la utilizada en grandes, donde se aborda el tórax por un orificio único (Barakzai *et al.*, 2008; Michaux *et al.*, 2014; Peroni *et al.*, 2001; Relave *et al.*, 2010, 2008; Schamer *et al.*, 2014; Vachon y Fischer, 1998; Van Biervliet *et al.*, 2006), pudiéndose explorar únicamente un hemitórax por abordaje.

En los caballos, la técnica se realiza con frecuencia bajo anestesia general, aunque puede realizarse tan sólo con anestesia local y con el animal en estación, con administración de oxígeno (Hendrickson y Wilson, 1996; Hinchcliff y Byrne, 1991; Klohnen y Peroni, 2000; Mackey y Wheat, 1985; Peroni *et al.*, 2001; Vachon y Fischer, 1998). Se utilizan trócares o cánulas de unos 15 cm de largo y unos 10-12 mm de ancho, que se introducen inmediatamente ventrales al serrato dorsal o ventralmente al borde de los músculos epiaxiales cuando la técnica se realiza con el animal en estación, mientras que cuando el animal se anestesia totalmente, el espacio intercostal se elige en función del área deseada, por donde se introduce el endoscopio (Peroni *et al.*, 2001; Vachon y Fischer, 1998). La duración de las toracoscopias exploratorias se considera de alrededor de 15 minutos (Peroni *et al.*, 2001).

Existen, por el contrario, muy pocas referencias de esta técnica en el **ganado vacuno**. En 2014 se describió por primera vez su ejecución en vacas sanas adultas, sin premedicación alguna y con libre acceso continuo a comida y bebida (Scharner *et al.*, 2014), o bien con premedicación con flunixin meglumine (Michaux *et al.*, 2014) y anestesiados localmente en la zona de la incisión con procaína al 2% (15-20ml, SC), en varios espacios intercostales sin determinar. En este segundo estudio se tranquilizó a los animales con acepromazina (0,05mg/kg, IM) y se les administró ceftiofur sódico (1mg/kg, IV). El tiempo de las intervenciones osciló entre 15 y 20 minutos, según estudio. En ambos casos se insufló CO<sub>2</sub> para mejorar la visualización intratorácica de estructuras.

#### 1.5.5.4. Contraindicaciones y complicaciones de la toracoscopia

Aunque no constituya en sí una contraindicación absoluta, el mal estado general del paciente, sobre todo si presenta una neoplasia avanzada, constituye una contraindicación relativa para la toracoscopia en **medicina humana**. Tampoco está indicado realizar la técnica en pacientes con una toracotomía previa (Stoica y Walker, 2000). En cuanto a las complicaciones de la técnica, encontramos en medicina humana fundamentalmente el neumotórax (Parrish *et al.*, 2014), y aunque ya existe un manejo de éste muy específico para controlarlo durante la CVT (Rodríguez-Panadero, 2004) hay casos aislados de muerte durante la intervención (Rocca *et al.*, 2014).

En **medicina veterinaria**, la toracoscopia está contraindicada siempre que el animal presente un estado general gravemente afectado o moribundo (Rivera Barreno *et al.*, 2004). Además, encontramos el riesgo de dañar alguna víscera en cualquiera de las especies. Concretamente, en pequeños animales se ha descrito derrame pleural (Brisson *et al.*, 2006), hipoxemia e hipercarbia en fallos de ventilación (Mayhew, 2013; Schmiedt, 2009), hemorragias de arterias y venas intercostales o daño del nervio frénico (Mayhew, 2013) e incluso metástasis portal (Brisson *et al.*, 2006) como consecuencia de torascopias.

En la especie equina está descrita la ansiedad producida por el neumotórax en caballos con función pulmonar comprometida (Vachon y Fischer, 1998), además del propio neumotórax con tos y distrés respiratorio asociado al mismo (Peroni *et al.*, 2001), así como sus efectos depresores sobre el sistema cardiovascular (Peroni *et al.*, 2000). También se han descrito posibles complicaciones como laceraciones pulmonares y hemorragias intrapleurales (Lugo y Peroni, 2004).

En las escasas ocasiones en que la técnica se ha llevado a cabo en **vacas**, los únicos efectos descritos han sido tos durante la insuflación, neumotórax leve y ligeros temblores (Scharmer *et al.*, 2004), tenues cambios en la frecuencia respiratoria y cardíaca y en la saturación de oxígeno en sangre arterial (SaO<sub>2</sub>; Michaux *et al.*, 2014), aunque sólo se ha descrito en animales sanos, los cuales es de suponer que sean menos alterables.

En cualquier caso, la toracoscopia deja claras evidencias de que es una técnica segura, sencilla y con muchas aplicaciones diagnósticas en distintas especies animales.

#### 1.5.6. Biopsia de pulmón

Como hemos comentado anteriormente, una de las principales ventajas de esta técnica es la posibilidad de intervención quirúrgica durante la exploración, incluyéndose entre estas intervenciones la extracción de muestra (o biopsia) pulmonar.

La ventaja de la toma de muestras a partir de un tejido concreto y no a partir de fluidos, es la posibilidad de, por un lado, poder realizar una mayor batería de técnicas diagnósticas de laboratorio sobre el tejido extraído (histopatología, inmunohistoquímica, cultivo microbiológico, PCR, etc.) y por otro lado, de obtener aislamientos microbiológicos directamente a partir de las lesiones; el, lo que aporta una información mucho más fiel sobre la causa de la enfermedad. Si además, la muestra está tomada *in vivo*, a partir de una biopsia pulmonar, podemos estar seguros de que la bacteria en cuestión es la que está causando la lesión pulmonar y que no es fruto de una contaminación *postmortem*.

El problema de la biopsia de pulmón viene dado por la complejidad de la técnica para su obtención o bien por el precio del aparataje requerido, ya que la biopsia pulmonar quirúrgica, abierta o por toracotomía no está recomendada por el riesgo que conlleva, teniendo una mortalidad asociada de entre el 0,3 y el 70% en medicina humana (Gaenslery Carrington, 1980; Warner *et al.*, 1988). Por tanto, la toracotomía tampoco es una técnica recomendada en veterinaria, e igualmente, en el ganado vacuno para la realización de biopsias pulmonares (Anderson y St. Jean, 2008; Ducharme *et al.*, 1999).

De manera que vamos a revisar los antecedentes de las técnicas de biopsia pulmonar, de mínima invasión posibles en el ganado bovino por referencias ya existentes, o que consideramos posibles por su potencial.

##### 1.5.6.1. Biopsia percutánea

Tanto la biopsia pulmonar transtorácica percutánea como el aspirado con aguja fina (FNA por sus siglas en inglés) se han utilizado con éxito en **medicina humana** para mejorar el diagnóstico de la neumonía (Grobe *et al.*, 1993; Klein, 1969; Milman, 1995, 1993; Niden y Salem, 1997; Youmans *et al.*, 1968).

La biopsia pulmonar percutánea también se ha utilizado con éxito en **medicina veterinaria** en diferentes especies, incluyendo cánidos, suinos (Izumi *et al.*, 2004), ovinos (Braun *et al.*, 2000), equinos (De Clercq *et al.*, 2004; Doucety Viel, 2002; Dungworthy Hoare, 1970; Raphely Gunson, 1981; Savage *et al.*, 1998; Schatzmann *et al.*, 1974) y bovinos (Braun *et al.*, 2000; Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Burgess *et al.*, 2013; Dungworth y Hoare, 1970; Estermann, 1998; Sydler *et al.*, 2004).

De hecho, la biopsia percutánea es la única técnica de biopsia pulmonar desarrollada en el vacuno, salvo a nivel experimental donde está descrita la técnica de biopsia pulmonar transbronquial por broncoscopia (Prohl *et al.*, 2014).

#### **1.5.6.1.1. Indicaciones de la biopsia percutánea**

La biopsia pulmonar percutánea está indicada en los casos en los que se requiere un diagnóstico histológico de una enfermedad pulmonar difusa o bien de una masa torácica, o cuando se necesita realizar un análisis bacteriológico. Se suele utilizar cuando se han agotado otros procedimientos diagnósticos menos invasivos (Savage *et al.*, 1998), ya que tiene ciertas contraindicaciones.

#### **1.5.6.1.2. Equipamiento y técnicas de biopsia percutánea y resultado de las mismas**

En cuanto a este aspecto hay información bastante diversa. Ya en 1968, en **medicina humana**, se utilizó una aguja de biopsia Franklin Silverman para obtener muestras de pulmón en el 90% de los pacientes con enfermedad difusa y en el 100% de enfermos con masas aisladas, aunque se utilizó orientación por radiografía y se precisó de hasta cinco intentos para obtener tejido pulmonar (Youmans *et al.*, 1968). En 1993, resultó eficaz el uso de una aguja con un resorte (1,2 mm de diámetro); (Milman, 1993), y en 1995 una aguja Vacu-corte® (1.2 mm de diámetro; 200 mm de longitud) con una técnica de perforación (Milman, 1995). Otros autores han descrito el uso de un instrumento de biopsia de pulmón semi-automático (diámetro 0,95 o 1,2 mm) para recuperar con éxito muestras de pulmón de mayor longitud y aptas para histopatología, pero mediante orientación fluoroscópica u orientación por TAC (Milman, 1993).

Inicialmente, en **medicina veterinaria** y en concreto en el ganado vacuno, se usó un taladro eléctrico con un trépano para la recogida percutánea de muestras de pulmón. De hecho en 1970, dos autores utilizaron un trépano de 6,4 mm con un taladro eléctrico de mano para obtener muestras de pulmón a partir de los lóbulos pulmonares caudales, tanto en vacuno como en caballos, a través del octavo y noveno espacio intercostal y a una profundidad de 5cm (Dungworth y Hoare, 1970). Con este método, se obtuvieron muestras de pulmón en un 70% de las vacas (14/20) y en el 100% de los caballos (2/2), con biopsias de gran tamaño que producían una gran herida en el pulmón.

Cuatro años más tarde, se utilizó de nuevo un trépano con un taladro neumático en caballos, algunos sanos y otros enfermos, bajo anestesia general (Schatzmann *et al.*, 1974). Se recogieron muestras de los lóbulos pulmonares caudales a través de los espacios intercostales séptimo y octavo, utilizando un trépano de 6 mm con una tasa de efectividad del 76% de los intentos (19/25).

Fue ya en 1981 cuando se empezaron a utilizar otros instrumentos de biopsia como el Tru-cut® (14 G; 15 cm de longitud), el cual se utilizó con éxito para obtener muestras

de pulmón de 20 caballos: 3 con vómitos, 1 con neumonía y 16 caballos sanos (Raphely Gunson, 1981). En este caso los caballos permanecieron en estación y la muestra se tomó a través de los espacios intercostales séptimo y octavo, a nivel del codo y a una profundidad de 2 cm, obteniéndose tejido pulmonar en el 100% (20/20) de los caballos.

En 1999, se describió un nuevo método para biopsiar el pulmón en vacas adultas sanas en pie, mediante la inserción de una aguja de biopsia en el noveno espacio intercostal, entre 5 y 10 cm dorsal a los lóbulos ventrales, a una profundidad de 8 cm, guiados por ecografía (Braun *et al.*, 1999). Este estudio comparó tres instrumentos diferentes de biopsia: una cánula de biopsia de 18 G a Autovac<sup>®</sup>, un instrumento de biopsia Tru-Cut<sup>®</sup> 14 G (142 mm de longitud) y un sistema Bard Biopty<sup>®</sup> 14 G (160 mm de longitud). Se obtuvieron muestras de pulmón en un 9% (1/11) de los intentos de biopsia llevados a cabo mediante la cánula Autovac, en un 96% (48/50) de los intentos mediante Tru-Cut<sup>®</sup>, y en el 97% (38/39) de los intentos por el sistema Bard Biopty<sup>®</sup>.

El mismo grupo de investigación, en el año 2000, evaluó la utilidad de dos instrumentos de biopsia diferentes: un Tru-Cut<sup>®</sup> de 14 G (152 mm de longitud) y un sistema Bard Biopty<sup>®</sup> de 14 G (160 mm de longitud), en 20 ovejas sanas mediante guía ecográfica (Braun *et al.*, 2000). El abordaje se realizó desde el noveno espacio intercostal y se obtuvieron muestras de pulmón en el 100% de los intentos (20/20), con un 90% (18/20) de muestras útiles para histopatología.

Más recientemente, Burgess realizó varios estudios. En el primero, utilizaron diferentes tipos de biopsia en terneros holstein infectados experimentalmente con virus sincitial bovino, con edades de entre dos y cuatro meses (Burgess *et al.*, 2011). Se compararon dos sistemas Bard Magnum<sup>®</sup> con agujas de 12 y 14 G, sin encontrar diferencias significativas entre ambas. En este estudio, se muestrearon los lóbulos craneales con los animales sedados y con las extremidades anteriores extendidas, y a través de los primeros espacios intercostales (del primero al cuarto). Obtuvieron un 55% (22/40) de muestras válidas, con un éxito del 42,9% (6/14) en condiciones de campo, y un 61,5% (8/13) en condiciones hospitalarias. Este mismo grupo investigador realizó otro estudio posteriormente con terneros de cebo (Burgess *et al.*, 2013), utilizando una aguja tipo Bard Magnum<sup>®</sup> de 8 G, con los animales también sedados y a través de los espacios intercostales del tercero al sexto. En este estudio obtuvieron biopsia en el 95,9% (283/295) de las maniobras.

#### **1.5.6.1.3. Características de las biopsias percutáneas**

La longitud de las muestras de tejido pulmonar varía en función de los instrumentos de biopsia: el tamaño de las biopsias en vacas y caballos osciló entre 10 y 30 mm de longitud mediante un trépano de 6,4 mm con un taladro de mano eléctrico, pero dejaba una herida considerable en los pulmones (Dungworth y Hoare, 1970); mediante Tru-Cut<sup>®</sup> se obtuvieron muestras de 1 a 20 mm de longitud (14 G), tanto en ganado vacuno como en caballos (Braun *et al.*, 2000, 1999; Raphely Gunson, 1981; Sydler *et al.*, 2004; Venner *et al.*, 2006) y muestras que variaban en longitud de 1 a 18

mm mediante sistemas de biopsia Bard Biopty® con un resorte de 14 G (Braun *et al.*, 1999; Braun *et al.*, 2000; Sydler *et al.*, 2004; Venner *et al.*, 2006). Los resultados más recientes obtenidos mediante dos modelos diferentes de Bard Magnum® (12 y 14 G), muestran tamaños de biopsia de entre 2 y 12 mm de longitud (Burgess *et al.*, 2011).

En muchos de los estudios mencionados anteriormente no fueron capaces de obtener tejido pulmonar en tamaño y estado adecuado para efectuar el estudio histopatológico en los porcentajes deseados. Para mejorar estos resultados, se ha utilizado la guía ecográfica en biopsias mediante Tru-cut® y sistema Bard Biopty®, ambos con agujas de 14 G, consiguiéndose muestras de tejido pulmonar en el 71% de las veces (Sydler *et al.*, 2004). Las biopsias de longitud >4mm resultaron ser de excelente calidad, conteniendo más de 100 alvéolos, varios bronquiolos y arteriolas. Las biopsias de entre 2 y 4 mm se consideraron de buena calidad, con >50 alvéolos y con pocos bronquiolos. Las biopsias de 1 a 2 mm se catalogaron como válidas, con 30 o más alvéolos y las de <1 mm, inválidas. El único artefacto que se encontró durante la valoración histopatológica fue el colapso de los alvéolos.

Un estudio realizado en 1998 determinó que no hay un mayor aporte de información diagnóstica por llevar a cabo más de dos biopsias y que las biopsias de mayor tamaño tenían más probabilidades de llegar a un diagnóstico (Curley *et al.*, 1998). En el estudio de Burgess se determinó que tan sólo las muestras de menos de 2 mm no eran aptas para el estudio histopatológico, aunque en general vieron que la valoración histológica era más compleja en las biopsias que en las muestras *postmortem* (Burgess *et al.*, 2011). No obstante, se obtuvo un diagnóstico válido en el 75% de los casos. Este mismo grupo investigador obtuvo resultados similares en 2013 con un 74% de muestras con tejido pulmonar (210/283), de las cuales en un 9,5% de las muestras (20/210) se observaron cambios histopatológicos (Burgess *et al.*, 2013).

#### **1.5.6.1.4. Contraindicaciones y complicaciones de la biopsia percutánea**

Entre las contraindicaciones más frecuentes se incluyen aquellos animales con diátesis hemorrágica o con disnea o tos grave (Burgess, 2009). Esto último se debe a que la tos puede resultar en una laceración pulmonar o una embolia de aire. Del mismo modo, tampoco debe llevarse a cabo en pacientes con sospecha de bullas enfisematosas, por tener un mayor riesgo de neumotórax grave (Burgess, 2009).

Los posibles efectos secundarios de la biopsia pulmonar percutánea descritos en **medicina humana** incluyen hemorragia pleural, hemorragia parenquimatosa, neumotórax (Milman, 1995; Nideny Salem, 1997), epistaxis, hemoptisis (Niden y Salem 1.997), embolia gaseosa arterial (Aberle *et al.*, 1987), y la muerte.

Por otro lado, los efectos secundarios descritos en **medicina veterinaria** incluyen neumotórax del 30 al 44% de los casos (Dungworth y Hoare, 1970; Braun *et al.*, 1999; Venner *et al.*, 2006), hemoptisis en el 10% (Raphel y Gunson, 1981), epistaxis del 10 al 12% (Braun *et al.*, 2000; Burgess *et al.*, 2013; Venner *et al.*, 2006), tos en el 20%



(Venner *et al.*, 2006), tamponamiento cardiaco (Burgess *et al.*, 2013) colapso (Braun *et al.*, 1999), y muerte súbita (Burgess *et al.*, 2013; Reif, 1974).

En 2006, se realizó una endoscopia en los caballos después de la biopsia pulmonar (Venner *et al.*, 2006) y ésta reveló hemorragias en los bronquios principales en el 32% de los casos cuando se utilizó el Tru-cut® y sólo en el 10% cuando se utilizó un sistema automático (Venner *et al.*, 2006). En general no se encontraron efectos a largo plazo.

Específicamente en el **ganado bovino**, en los trabajos citados, los animales mantuvieron un apetito normal tras el procedimiento, así como una frecuencia respiratoria normal, además de tener recuentos celulares normales de la serie blanca y concentraciones normales de fibrinógeno 10 días después de la biopsia de pulmón (Braun *et al.*, 1999). Cuando se han realizado exámenes *postmortem* a animales biopsiados éstos revelaron hemorragias mínimas con menos de un 10% de lesiones graves, en animales que no presentaban ningún signo clínico (Braun *et al.*, 1999). Además, las áreas de la biopsia se habían curado sin complicaciones dentro de los 10 días siguientes al procedimiento de biopsia (Braun *et al.*, 1999). No se observaron adherencias pleurales en el examen *postmortem* (Braun *et al.*, 1999; Braun *et al.*, 2000; Dungworth y Hoare, 1970) y sólo había una cicatriz pequeña presente en los sitios de la biopsia (Braun *et al.*, 2000). En un estudio de 1999, las vacas fueron biopsiadas utilizando un Bard Biopty® y un Tru-cut® en lados opuestos del tórax, con lesiones similares observadas en la evaluación *postmortem* (Braun *et al.*, 1999). Más recientemente, Burgess *et al.*, describieron dentro de los efectos secundarios tras biopsias percutáneas tamponamiento cardiaco en un caso (1/210), epistaxis en otro (1/210) y muerte en otro caso más (1/210); (Burgess *et al.*, 2013). Pero en líneas generales, estos estudios indican que hay un mínimo de efectos a largo plazo asociados con la biopsia percutánea de pulmón y sugieren que, en general, es un procedimiento seguro y una herramienta de diagnóstico útil para evaluar parénquima pulmonar en muchas especies animales, incluyendo los bovinos (Burgess, 2009). Sin embargo, este diagnóstico no se realiza de forma rutinaria en un entorno clínico, y hasta la fecha, sólo se han publicado unos pocos trabajos de biopsia de tipo percutánea en el ganado bovino que no fueran a ciegas (Braun *et al.*, 1999; Sydler *et al.*, 2004), siendo en estos casos guiados por ecografía pero sin haber aún ninguna aproximación a la biopsia mediante TAC o endoscopia.

### 1.5.6.2. Biopsia por endoscopia

Según la bibliografía consultada, la biopsia pulmonar guiada mediante endoscopia se realiza fundamentalmente a través de un bronquio (biopsia transbronquial) introduciendo el endoscopio, bien por la nariz o bien perforando con un trócar la tráquea (traqueobroncoscopia); o sin pasar por las vías respiratorias altas, directamente a través de la pared torácica (biopsia por toracoscopia).

#### 1.5.6.2.1. Biopsia pulmonar transbronquial

La biopsia transbronquial se usa muy frecuentemente para el diagnóstico de las enfermedades pulmonares en **medicina humana** con unas excelentes condiciones de precisión y seguridad (Huang *et al.*, 2014). Ya en los 70 se confirmó como un método más rápido y seguro que la toracotomía y más preciso que la biopsia con aguja fina (Borgeskov y Francis, 1974). En medicina humana puede realizarse con los pacientes despiertos, ya que de hecho, su colaboración es importante durante el proceso de la introducción del endoscopio y de la toma de la biopsia en la bifurcación bronquial (Baldwin *et al.*, 2014; Chopra y Mohsenifar, 1979). En la actualidad existen técnicas muy novedosas que permiten incluso realizar la biopsia pulmonar broncoscópica mediante navegación electromagnética (Chen *et al.*, 2014). A diferencia de la medicina veterinaria de grandes animales, en medicina humana la gran mayoría de los pacientes se intervienen con ventilación asistida (Agarwal *et al.*, 2012).

En cuanto a **medicina veterinaria**, Roudebush describió la técnica de traqueobroncoscopia en pequeños animales (Roudebush, 1990) y poco después, en 1993, se valoró esta técnica en perros que luego serían eutanasiados para valorar la sensibilidad diagnóstica de la misma, obteniendo un porcentaje del 25% (Tazelaar *et al.*, 1993). En la actualidad se emplea con bastante frecuencia y buenos resultados en gatos (Dear y Johnson, 2013; Johnson y Drazenovich, 2007).

##### 1.5.6.2.1.1. Indicaciones de la biopsia pulmonar transbronquial

Las indicaciones para proceder a una traqueobroncoscopia en perros y gatos son animales con presentación de signos de tipo crónico o agudo de tos, hemoptisis, estridores o disnea que no han obtenido diagnóstico por otros medios (Creevy, 2009; King, 2004; Padrid, 2000).

En los caballos, la broncoscopia es una técnica que se usa casi exclusivamente en la exploración (Deegen *et al.*, 1982), con prácticamente ninguna información científica en cuanto a las biopsias por este método, según nuestro conocimiento.

En el **ganado bovino** la biopsia pulmonar transbronquial se ha descrito tan sólo de manera experimental, con el objetivo de producir inoculaciones de determinados agentes patógenos para estudiar su patrón de comportamiento, pudiendo además

obtener muestras *in vivo* evitando el sacrificio de los animales (Prohl *et al.*, 2014). En este estudio, la recomendación de los autores era tomar las biopsias a la altura del bronquio traqueal con el animal sedado durante todo el proceso.

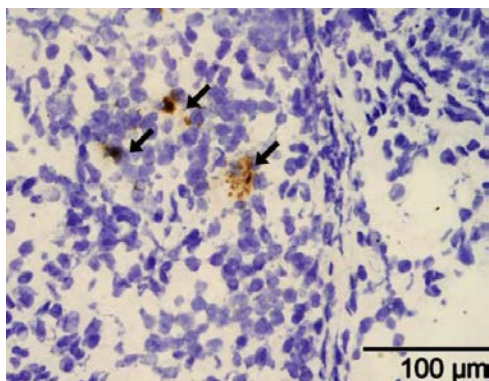
#### 1.5.6.2.1.2. Características de la biopsia pulmonar transbronquial

Para mejorar los resultados diagnósticos, en **medicina humana** se recomienda tomar 3-4 muestras de tejido de diferentes segmentos pulmonares, aunque puede incrementarse el riesgo de neumotórax (Huang *et al.*, 2014).

En **medicina veterinaria**, Tazelaar coincidió en que eran necesarias tres biopsias en perros para tener resultados mínimos de sensibilidad del 92%, ya que sólo tres de cada cinco biopsias resultaban válidas para diagnóstico (Tazelaar *et al.*, 1993). Otros autores ponen de manifiesto la dificultad para tomar las muestras con precisión en perros y gatos e igualmente, la necesidad de tomar múltiples muestras para llegar a obtener información válida (Bauer, 2000; Creevy, 2009; Johnson, 2001).

Por otro lado, en un trabajo de 1997 realizado **en personas**, ya se obtuvo un 34,9% de las biopsias (29/83) con resultados de histopatología válidos (O'Brien *et al.*, 1997), aunque en este trabajo no se describe detallaron el tamaño de las muestras obtenidas.

En **pequeños animales**, la recomendación más extendida es la de procurar usar herramientas que permitan muestreos de más de 2 mm (Johnson, 2001). Aunque no se detallan datos concretos del tamaño de la muestra en la única publicación existente en el ganado vacuno, sí se especifica que una de las limitaciones de la biopsia transbronquial es, precisamente, el tamaño de la muestra obtenida (Prohl *et al.*, 2014). No obstante, con esta técnica, se pueden obtener muestras de biopsia aptas para realizar IHQ a partir de las biopsias congeladas en nitrógeno líquido. De hecho, en este estudio se inoculó y se detectó posteriormente *Chlamydia psittaci*, como se puede ver en la figura 32.



**Figura 32.** Biopsia pulmonar transbronquial bovina donde se observan inclusiones de *C. psittaci* (de Prohl *et al.*, 2014).

#### 1.5.6.2.1.3. Contraindicaciones y complicaciones de la biopsia pulmonar transbronquial

Los **efectos secundarios** descritos más frecuentemente en medicina humana para la biopsia transbronquial son únicamente pequeñas hemorragias y un neumotórax pasajero (Tukey y Wiener, 2012) que está descrito en el 1 y el 28% de los pacientes (Asano *et al.*, 2012; Bulpa *et al.*, 2003; Eapen *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Rand *et al.*, 2011); y casos aislados de embolismo cerebral (Evison *et al.*, 2014) o hemoneumotórax (Jacobsen *et al.*, 2001). No obstante, parece no haber acuerdo entre los especialistas, por lo que casi todos medican a los pacientes con anticoagulantes tras el procedimiento (Wahidi *et al.*, 2005).

En veterinaria, en pequeños animales, los principales efectos adversos de la técnica consisten en la exacerbación de los signos clínicos previos y el broncoespasmo, especialmente en los gatos (Johnson, 2001). En ganado vacuno se describe también la presencia de un neumotórax pasajero durante las primeras 24 horas como único efecto secundario (Prohl *et al.*, 2014), pero no se demuestran efectos adversos de gravedad.

Por tanto, esta técnica se puede considerar como segura y útil en el diagnóstico de enfermedades respiratorias, aunque no nos permite seleccionar los lóbulos a muestrear, especialmente en el caso de los lóbulos más caudales o ventrales.

#### 1.5.6.2.2. Biopsia pulmonar por toracoscopia

La biopsia realizada mediante toracoscopia responde a una necesidad en medicina humana de mejorar los resultados diagnósticos, mediante cirugía de mínima invasión. Esto es así porque hay muy pocos estudios que no muestren una clara preferencia por la toracoscopia frente a la toracotomía, aunque algunos autores aún defienden que no hay diferencias significativas entre ambas técnicas (Wei *et al.*, 2004).

La **medicina humana**, a diferencia de la medicina veterinaria de grandes animales, considera la biopsia cerrada o percutánea un método anticuado y de capacidad diagnóstica limitada (Janssen, 2010), aunque está bastante reconocida para el diagnóstico de la tuberculosis con un aumento de la sensibilidad de la técnica del 40 a más del 90% en personas (Diacon *et al.*, 2003). En un estudio donde se compararon los resultados de la biopsia cerrada con la biopsia guiada por TAC, en humana, se vio que la sensibilidad era de un 87% (tabla 11), lo que supuso un 40% más que la biopsia cerrada (Maskell *et al.*, 2003). En base a estos resultados, la alternativa a la toracotomía y a la biopsia percutánea podría ser la biopsia guiada por medio de técnicas de diagnóstico por imagen, que realmente mejoran los datos de sensibilidad, superando en ambos casos el 83% (tabla 12); (Gleeson, 2008). Pero lo cierto es que los mejores resultados en la mayoría de los estudios vienen a cargo de las biopsias realizadas mediante toracoscopia, con más de un 90% de sensibilidad y ausencia de radiación o técnicas de contraste (Janssen, 2010). Por tanto, la biopsia por

toracoscopia es, a día de hoy, el método de elección en medicina humana (Ponsky y Rothenberg, 2008; Samejima *et al.*, 2015).

En **medicina veterinaria** esta técnica está mucho menos implantada, posiblemente por el alto coste del aparataje, aunque existen estudios con resultados de biopsia pulmonar por este método en pequeños animales (Faunt *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 1998; Marvel y Monnet, 2013; Mayhew *et al.*, 2012; Rivera Barreno *et al.*, 2004), caballos y ponis (Barakzai *et al.*, 2008; Lugo y Peroni, 2007; Relave *et al.*, 2010, 2008).

**Tabla 12.** Comparación de las técnicas para la obtención de biopsias pulmonares en medicina humana (adaptado de Janssen, 2010).

	BIOPSIA CIEGA	BIOPSIA POR TORACOSCOPIA	BIOPSIA GUIADA POR TAC	BIOPSIA GUIADA POR ECOGRAFÍA
<b>SENSIBILIDAD</b>	40-45%	90-95%	87%	85%
<b>ESPECIFICIDAD</b>	100%	100%	100%	100%
<b>VENTAJAS</b>	Procedimiento barato	Proceso diagnóstico y terapéutico en una sola sesión	Lesiones mínimas y buen acceso	Imágenes a tiempo real y sin radiación
<b>DESVENTAJAS</b>	Proceso ciego con bajos resultados diagnósticos	Requiere hospitalización	Exposición a la radiación y necesidad de contraste previo para localizar la lesión	Necesidad de contraste previo para localizar la lesión

#### 1.5.6.2.2.1. Indicaciones de la biopsia pulmonar por toracoscopia

La biopsia por toracoscopia está indicada en **medicina humana** para el diagnóstico de procesos torácicos en general (Miller y Hatcher, 1978), desde enfermedad pulmonar difusa (Ferson y Landreneau, 1998; Fibla *et al.*, 2012; Gluer *et al.*, 2008; Pompeo *et al.*, 2013; Qureshi *et al.*, 2007; Rizk y Lillington, 1995; Samejima *et al.*, 2015; Zaraca y Ebner, 2006), masas, neumotórax, tuberculosis o derrame pleural, entre otros (Ferguson, 1993; Fibla *et al.*, 2012; Gluer *et al.*, 2008; Janssen *et al.*, 1995, p. 1; Miller y Hatcher, 1978; Pompeo *et al.*, 2013; Van Schil *et al.*, 1996).

En **medicina veterinaria**, las principales indicaciones son el diagnóstico de masas (Adamiak *et al.*, 2008) y enfermedad respiratoria en general (Fibla *et al.*, 2012; García *et al.*, 1998; Relave *et al.*, 2010) como enfermedades pulmonares de tipo infeccioso o intersticial (Barakzai *et al.*, 2008; Norris *et al.*, 2002).

#### **1.5.6.2.2.2. Características de la biopsia pulmonar obtenida por toracoscopia**

La toracoscopia clásica en **medicina humana** se aplicó para biopsia pulmonar en enfermedades difusas, pero el pequeño tamaño de las muestras obtenidas y eventuales pérdidas de parénquima hicieron que su utilización no se generalizase en primera instancia; sin embargo, la mejora técnica de medios visuales e instrumentales de los años 90 ha ampliado las indicaciones y ha revolucionado las expectativas diagnósticas (Callejas Pérez *et al.*, 1995).

Hay pocos trabajos donde se detallen las características de las biopsias en **medicina veterinaria**. En un estudio realizado en 1998, en seis perros, donde se evaluaron minuciosamente las muestras de biopsia obtenidas por este método, se obtuvieron un 100% de muestras con un tamaño y características adecuadas para el diagnóstico histopatológico (Faunt *et al.*, 1998). En otro trabajo de resultados similares se añadía además que el tamaño medio de las biopsias obtenidas a partir de perros y gatos fue de  $2 \pm 0,5$  cm (Rivera Barreno *et al.*, 2004). En un estudio realizado en caballos, también se obtuvo un 100% de muestras válidas para histopatología, con una media de 2-5 biopsias por animal (Relave *et al.*, 2010). Estos resultados, aunque escasos, ya nos muestran mejores expectativas que los resultados revisados en la biopsia percutánea en animales.

#### **1.5.6.2.2.3. Complicaciones de la biopsia pulmonar por toracoscopia**

En cuanto a los efectos secundarios o secuelas de la técnica, en **medicina humana** son muy reducidos (Janssen, 2010), siendo el más frecuente el neumotórax. Aunque existen casos más graves éstos son puntuales e incluyen desde neumonía, hipertensión (Kreider *et al.*, 2007), derrame pleural (Brisson *et al.*, 2006), hasta shock séptico y muerte (Callejas Pérez *et al.*, 1995).

En **medicina veterinaria** se ha descrito neumotórax en todas las especies donde se ha llevado a cabo la técnica (Rivera Barreno *et al.*, 2004; Relave *et al.*, 2008, 2010), siendo muy buena la recuperación en perros. Por el contrario, en caballos se apreció también hemorragia intercostal y se pudo observar en animales eutanasiados cuatro meses tras el procedimiento de biopsia que se encontraban amplias áreas de tejido modificado compatible con tejido cicatricial (Relave, 2010).

#### **1.5.6.2.2.4. La biopsia mediante toracoscopia en el ganado vacuno**

Hasta la fecha no existen trabajos que describan esta técnica en el ganado vacuno, a excepción de resultados de un caso clínico único en un ternero mamón de raza frisona, al que se le realizó la biopsia mediante toracoscopia, con el animal en estación y anestesiado localmente (Espinosa-Crespo *et al.*, 2014). En este caso se repitió el procedimiento endoscópico a los 14 días para valorar posibles lesiones derivadas de la técnica y se concluyó que la técnica no tiene porqué producir lesiones

pulmonares, tan sólo un neumotórax pasajero. En este animal, además, fue posible biopsiar el pulmón tanto en los lóbulos craneales como en los caudales, obteniéndose muestras aptas para histopatología. Se añadió que las mayores limitaciones fueron el tamaño de la muestra (1-2 mm), el aparataje (por su alto precio) y las adherencias completas que limitaban el acceso posterior.

Por tanto, y en base a este trabajo y a lo anteriormente revisado y descrito, cabe sospechar que el desarrollo de un método de biopsia pulmonar guiada mediante toracoscopia en condiciones favorables de seguridad y bienestar animal podría ser posible, y además, resultar en una técnica diagnóstica no sólo innovadora sino de gran interés diagnóstico y pronóstico para el SRB.

## **JUSTIFICACIÓN**





## **2. JUSTIFICACIÓN**

A pesar de todos los avances realizados en las últimas décadas en el conocimiento de diferentes aspectos como los factores de riesgo, la patogenia, las características de los agentes causales y los patrones lesionales del SRB y a las numerosas investigaciones sobre el SRB y sus efectos globales, ésta continua siendo la enfermedad de mayor impacto económico en el ganado vacuno de cebo. Además, parece que tanto su incidencia como las pérdidas que origina permanecen estables en los cebaderos de todo el mundo. Debemos considerar que es una enfermedad de difícil control dado su carácter multifactorial y con la que, por tanto, debemos acostumbrarnos a convivir aunque aspirando a minimizar tanto su incidencia como la gravedad de sus consecuencias. Por tanto, cualquier información o estudio relacionado con la prevención y el diagnóstico precoz de esta enfermedad es muy útil.

Aunque existen muchas técnicas diagnósticas a nuestra disposición, aún no se puede discriminar una técnica de referencia o “gold standard” para el diagnóstico del SRB y, mucho menos, una técnica diagnóstica estandarizada para su diagnóstico precoz. Es por este motivo que establecer y estandarizar protocolos diagnósticos para la detección de grupos de animales en riesgo, para monitorizarlos de una manera más intensa en fases posteriores del cebo, son actuaciones de gran interés, máxime si esto además puede utilizarse para reducir el consumo de antibióticos de uso preventivo o metafiláctico.

Hasta ahora, este tipo de estrategias se han basado en la detección de evidencias de contacto con gérmenes patógenos pulmonares. Sin embargo, no debemos olvidar que la identificación de un agente patógeno en ausencia de una lesión y/o signos clínicos atribuibles al mismo, tan sólo es indicativa de contacto previo (no de padecimiento de un proceso de enfermedad) y que, por otro lado, la mayoría de los agentes microbiológicos ligados al SRB son comensales habituales de las vías respiratorias altas. Así que, la identificación de un agente sólo prueba enfermedad si se diagnostica junto con la lesión y los signos clínicos compatibles de enfermedad.

Por otro lado, aunque seamos capaces de detectar la enfermedad, esto tampoco dilucida el agente causal, ya que apenas hay lesiones patognomónicas, como tampoco si estamos ante un proceso de tipo agudo o crónico en muchos casos. Estas últimas características de la enfermedad son esenciales para reducir el devastador impacto que el SRB provoca en el sistema productivo del cebo de teneros y es un tipo de información que debería ser capaz de ofrecer una técnica de referencia en diagnóstico, mejor aún si es aplicable en animales vivos.

Una técnica de diagnóstico eficaz y precoz nos permitirá por un lado, elevar el nivel de bienestar animal en los cebaderos, reduciendo la cantidad de animales enfermos, y el tiempo de enfermedad por animal, lo que dará lugar a una mayor aceptación social de este tipo de sistemas productivos, cada vez más cuestionados en nuestra sociedad. Por otro lado, podrá derivar en un menor uso general de antibióticos (menos recaídas y animales crónicos) por una mayor eficacia de los mismos, lo que vuelve a redundar en una mayor aceptación social, además de un mejor rendimiento económico.

Finalmente, un mayor porcentaje de animales sanos y un menor uso de medicamentos en los lotes de cebo suponen una mayor rentabilidad económica, lo que ayuda a la sostenibilidad de estas explotaciones.

Con todo esto en mente, y en base a todas las evidencias científicas desarrolladas en la revisión bibliográfica previa, nos proponemos el desarrollo de estrategias que permitan minimizar el impacto del SRB en los cebaderos. Así pues, por un lado, nos centraremos en determinar estrategias diagnósticas, lo más precoces posible y con técnicas aplicables en el campo, para detectar los animales de mayor riesgo de padecer SRB a nivel de rebaño. Además, evaluaremos si esta estrategia, permite reducir la aplicación sistemática de antibióticos, cumpliendo la premisa obligatoria de establecer un uso más racional de los mismos.

Por otro lado, nos proponemos explorar la aplicabilidad, también a nivel de campo, de una técnica diagnóstica individual, eficaz, segura y respetuosa con el bienestar animal y que incluya todos los requisitos ideales de una técnica de diagnóstico de SRB previamente comentados. Es decir, que sea aplicable en condiciones de campo, que ofrezca información diagnóstica directa, que permita diferenciar cuadros crónicos, que facilite la toma de muestras desde la lesión y que se pueda efectuar de manera seriada en animales vivos.

La toracoscopia es una técnica descrita como sencilla y segura para los bovinos sanos que, de comportarse igual en animales enfermos por SRB, permitiría el acceso a todo el pulmón, con la posibilidad de mapearlo y tomar biopsias para determinar la causa etiológica específica de las lesiones concretas, en función de la fase de la enfermedad; lo que permitiría establecer así la cronología de las lesiones. Además cumple con los requisitos, previamente citados. Por lo tanto, es la técnica que hemos elegido para el desarrollo de la fase experimental de este trabajo de tesis doctoral. Finalmente, creemos que puede convertirse en una herramienta interesante no sólo para aplicaciones de tipo diagnóstico y pronóstico en animales enfermos, sino también para la realización de estudios secuenciales de SRB para aumentar el conocimiento sobre la patogenia y la evolución de esta enfermedad o bien como soporte en los estudios preclínicos, ensayos clínicos y farmacovigilancia.

## **OBJETIVOS**



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de este trabajo es reducir el impacto negativo del SRB en los cebaderos de terneros mediante la implementación de técnicas diagnósticas válidas para detectar de manera precoz los animales con mayor riesgo de padecer SRB, a nivel de rebaño (temperatura rectal y su punto de corte), y alcanzar un diagnóstico etiológico veraz a nivel individual, así como la descripción del patrón pulmonar, ambos *in vivo* (aplicación de la toracoscopia diagnóstica y la biopsia toracoscópica). Además, evaluaremos las consecuencias positivas de la aplicación de estas técnicas diagnósticas en los sistemas productivos.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinación del punto de corte de temperatura rectal para la detección de terneros en alto riesgo de sufrir SRB a la entrada en el cebadero.
2. Validación de dicho punto de corte mediante la aplicación de metafilaxia parcial y evaluación del resultado de enfermedad posterior en cebaderos comerciales.
3. Valoración de la idoneidad e inocuidad de la técnica de toracoscopia en el diagnóstico de SRB en terneros enfermos y en condiciones de campo.
4. Determinación del protocolo óptimo de la técnica toracoscópica de exploración pulmonar en estas condiciones.
5. Evaluación de la calidad de las muestras obtenidas y de la influencia de factores específicos sobre la calidad de muestras pulmonares obtenidas mediante biopsia con el equipamiento de toracoscopia en pulmones bovinos *postmortem*.
6. Determinación del protocolo óptimo de biopsia pulmonar mediante toracoscopia en terneros de cebo enfermos de SRB y en condiciones de campo.
7. Evaluación de la capacidad diagnóstica de la toracoscopia para el SRB en estas condiciones.



# **HERRAMIENTAS INNOVADORAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO**







## **CAPÍTULO 1**



#### **4. CAPÍTULO 1**

### **Diagnóstico precoz del síndrome respiratorio bovino a la entrada en cebadero. Reducción del uso metafiláctico de antibióticos**

Como se ha descrito previamente, tan sólo existen dos estudios previos que tenían como objetivo identificar la población de mayor riesgo de padecer SRB a la entrada en los cebaderos, mediante la selección de los animales a tratar con metafilaxia en base a un criterio clínico de temperatura corporal (Galyean *et al.*, 1995; Vogel *et al.*, 1998). Ambos estudios evaluaron el uso de la metafilaxia selectiva con tilmicosina basándose en un punto de corte de temperatura corporal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  (Galyean *et al.*, 1995) o a  $40^{\circ}\text{C}$  (Vogel *et al.*, 1998), obteniendo resultados contradictorios. No obstante, el estudio de estrategias que permitan reducir el uso de antibióticos en la metafilaxia sin detrimento de la salud de los animales es de gran interés.

Para abordar los objetivos específicos 1 y 2 del presente trabajo de Tesis Doctoral, se llevó a cabo un estudio que valoraba la eficacia en la determinación de la población de más riesgo de contraer SRB a la entrada al cebadero en base a la temperatura rectal, considerando el punto de corte de  $39,7^{\circ}\text{C}$ , mediante la aplicación de metafilaxia selectiva con el antibiótico florfenicol, de demostrada eficacia para tratar (Booker *et al.*, 1997; De Haas, V *et al.*, 2006; Jim *et al.*, 1999; Van Donkersgoed *et al.*, 2008a) y prevenir (Catry *et al.*, 2008) el SRB. La hipótesis de trabajo fue que si el criterio de diagnóstico precoz de SRB era válido, los resultados de salud y productividad posterior en los grupos de terneros comparados (metafilaxia al 100% de los animales y metafilaxia a los animales con temperatura rectal de  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ) serían similares.

Estos resultados se incluyeron en la publicación derivada del trabajo de tesis (anexo I).

#### **4.1. MATERIAL Y MÉTODOS**

Para abordar los objetivos del trabajo experimental, se llevaron a cabo dos experimentos diferentes en cebaderos comerciales.

##### **4.1.1. Cebaderos: alojamiento y alimentación**

Los cuatro cebaderos en donde se realizó el estudio se encuentran en el centro de España (provincias de Madrid, Castilla-La Mancha y Castilla y León), y tenían una capacidad de entre 700 y 2.200 cabezas (tabla 13). Los corrales se encontraban techados, abiertos en el frente y parcialmente cerrados en la zona posterior, suficientemente ventilados y con suelo de cemento cubierto por cama de paja, con una media de  $5,5\text{ m}^2$  de superficie por animal, tenían libre acceso a agua y a pienso en forma de *pellets*, así como a paja de buena calidad. El pienso estaba compuesto principalmente por maíz, cebada, soja, salvado, aceite de palma y un suplemento de vitaminas y minerales. Los terneros se alimentaron con un pienso de arranque (89%

de materia seca, 14,5% de proteína cruda, 1,6 Mcal/kg y 4% de grasa sobre materia húmeda) durante los primeros 20 días del estudio, y con un pienso de engorde a partir de ese momento (materia seca del 89%, 14% de proteína, 1,7 Mcal/kg y 4,7% grasa sobre materia húmeda).

**Tabla 13.** Características de los terneros de alto riesgo de padecer SRB en cada réplica del ensayo clínico.

	CEBADERO			
CARACTERÍSTICAS	1	2	3	4
Terneros a la entrada	120	63	75	96
Terneros incluidos	88	57	61	81
Estación del año	Verano (julio)	Otoño (noviembre)	Primavera (junio)	Verano (agosto)
Media de peso vivo (rango)	263 kg (204.5-346)	288 kg (220-345)	293 kg (250-371)	238,5 kg (185-314)
Transporte	300 km en camión	36 h en barco y camión	700 km en camión	200 km en camión
Sexo	40 machos y 48 hembras	Hembras	Hembras	37 machos y 44 hembras

#### 4.1.2. Diseño experimental y recogida de datos

Se trataba de un estudio experimental, controlado, aleatorizado y ciego dividido en dos experimentos efectuados ambos en cebaderos comerciales. El experimento 1 consistía en el estudio, durante 30 días, de cuatro réplicas con distintos lotes de animales de cebo (cuatro entradas distintas), mientras que el estudio 2 incluía el seguimiento de un único lote de cebo, hasta la salida a matadero.

En cada entrada de animales, se permitía el reposo de éstos durante un mínimo de 12 horas tras su llegada, en un corral amplio, con acceso *ad libitum* al agua y la paja de cebada. Después, se crotalaban, pesaban y se realizaban las valoraciones clínicas de rutina excluyéndose del estudio aquellos terneros que no tenían un estado saludable (enfermedad sistémica diferente de SRB; con SRB antes del día cero; con anomalías físicas, con lesiones o traumatismos que podrían interferir en el estudio; o terneros moribundos). Los terneros que mostraron un comportamiento agresivo pudiendo poner en peligro al personal del estudio también fueron excluidos del trabajo.

Las condiciones fueron las mismas para todos los animales independientemente de su grupo de tratamiento, manteniéndose los terneros en el corral asignado hasta la finalización del estudio. En general, se aplicaron todos tratamientos estándar,

habituales a la entrada del cebadero y la única diferencia con las prácticas estándar fue el retraso de la vacunación frente a virus respiratorios y bacterias clostridiales hasta 15 días después de lo habitual, a fin de evitar interferencias con la temperatura rectal o los signos clínicos durante los primeros 15 días tras la aplicación de la metafilaxia.

Desde su llegada a los corrales de engorde, se supervisó el estado de salud de los terneros una vez al día, por la mañana temprano, con el fin de evitar las posibles interferencias del aumento de la temperatura rectal descritas por Galyean (Galyean *et al.*, 1995) y no debidas a condiciones patológicas sino a influencias del ambiente. La temperatura rectal fue medida con un termómetro digital calibrado (M700®, GLA Agrícolas Electrónica).

Diariamente se evaluó la salud general y los signos clínicos de SRB en todos los terneros. Los criterios diagnósticos para detectar SRB fueron los siguientes, a su vez detallados en la tabla 14: valor de "estado de enfermedad/depresión" mayor de 1, en base a una escala de 0-4 puntos, donde cero era sano; 1, depresión leve; 2 depresión de moderada a marcada; 3, depresión grave y 4, cuando el animal era incapaz de levantarse. Además, se debían mostrar una temperatura rectal  $\geq 40^{\circ}\text{C}$  y presentar, al menos, un signo respiratorio (entre taquipnea  $> 40\text{rpm}$ , disnea, secreción nasal purulenta o tos).

**Tabla 14.** Protocolo para la valoración de los signos clínicos para el diagnóstico de SRB en terneros de cebo.

Puntuación de enfermedad	Signos respiratorios	Temperatura rectal
<b>0</b> = Sano; alerta <b>1</b> = Levemente enfermo; depresión moderada <b>2</b> = Moderadamente enfermo; depresión de moderada a marcada <b>3</b> = Gravemente enfermo; depresión grave <b>4</b> = Moribundo; incapaz de levantarse	<u><b>Frecuencia respiratoria:</b></u> Taquipnea ( $> 40\text{ rpm}$ ) <u><b>Disnea:</b></u> 0=ausencia; 1=moderado; 2=grave <u><b>Descarga nasal:</b></u> 0=ausente; 1=serosa; 2=purulenta <u><b>Tos:</b></u> 0=ausencia; 1=suave 2=fuerte; 3=dolorosa	<b>Fiebre: <math>\geq 40^{\circ}\text{C}</math></b>

La metafilaxia está indicada en "terneros de alto riesgo". Según Edwards (Edwards, 2010) y Smith (Smith *et al.*, 2001), un criterio para aplicar la metafilaxia antimicrobiana a la llegada al cebadero en un grupo en particular de terneros, es cuando la morbilidad de SRB supera el 10% durante 2-3 días consecutivos. Con el fin de estar seguros de que se trataba de terneros en alto riesgo de padecer SRB, se esperaba al día en que la incidencia de SRB alcanzaba el 10%, día que se definió como día "0" del estudio.

En ese día cero, los terneros se distribuían de manera aleatoria pero separados en base a sexo, peso y temperatura rectal ( $<$  y  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ), a alguno de los cuatro grupos experimentales definidos.

Tanto la puntuación de la enfermedad como el diagnóstico de SRB previo y durante el estudio, fueron determinados por el mismo investigador experimentado, pero desconocedor de los tratamientos asignados a los animales (estudio ciego).

En ambos experimentos se hicieron observaciones clínicas durante los siete días posteriores a la administración de los antimicrobianos, con el fin de detectar reacciones adversas.

Las pesadas se efectuaron 3 veces, una en el día de la entrada de los animales y dos más durante el periodo de estudio (a día cero del estudio y a día 30), con el fin de calcular la ganancia de peso media. Las pesadas se realizaron por las mañanas, antes de la administración del alimento, evitando el aumento de peso debido al alimento consumido directamente antes del pesaje.

El tratamiento metafiláctico en el experimento 1 consistía en una única administración de florfenicol (Nuflor<sup>®</sup>, MSD AH, Boxmeer, Holanda) a dosis 40 mg/kg vía subcutánea. En el experimento 2 el grupo de metafilaxia total se trató con tulatromicina (Draxxin<sup>®</sup>, Zoetis, París, Francia) a dosis de 2,5 mg/kg, vía subcutánea).

#### **4.1.2.1. Experimento 1**

Entre los meses de julio y octubre del año siguiente, se valoraron un total de 354 terneros con diferentes orígenes, pesos iniciales, razas, y distancias recorridas en los traslados previos a la entrada al cebadero, para ser incluidos en alguna de las cuatro réplicas llevadas a cabo durante diferentes estaciones del año (cebaderos 1-4, tabla 13). Los ensayos comenzaron tras la llegada a los cebaderos y terminaron 30 días después del día cero del estudio. En el día de la entrada se registraban los síntomas respiratorios y de salud de todos los animales, es decir, depresión, frecuencia respiratoria, secreción nasal, disnea, tos y temperatura rectal.

Se excluyeron un total de 67 terneros en este día debido a que fueron diagnosticados como positivos a SRB (antes de comenzar el estudio). Los 287 animales restantes fueron asignados en base a la temperatura rectal a los siguientes grupos:

- grupo de alta temperatura (GAT), cuando los animales tenían temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$
- grupo de baja temperatura (GBT) cuando los animales presentaban temperatura rectal  $< 39,7^{\circ}\text{C}$

A su vez, los animales de estos grupos fueron asignados aleatoriamente a alguno de los cuatro grupos experimentales siguientes, según recibían metafilaxia o no:

- grupo de terneros GAT con metafilaxia con florfenicol (GAT+)
- grupo de terneros GAT control (sin metafilaxia; GAT-)
- grupo de terneros GBT con metafilaxia con florfenicol (GBT+)
- grupo de terneros GBT control (sin metafilaxia; GBT-)

Con el fin de determinar la presencia de patógenos, en los días 0 y 15 se tomaron muestras de sangre y muestras hisopos nasales [Médical Wire & Equipment Co. (Bath) Ltd., Reino Unido] de todos los terneros de la primera réplica (cebadero 1) y de una selección aleatoria del 15% de los terneros en el resto de las réplicas.

#### **4.1.2.2. Experimento 2**

Entre diciembre y septiembre del año siguiente, se incluyeron en este experimento un total de 132 terneros machos, de raza holstein, destetados y originarios de granjas lecheras españolas, con peso medio de  $135,2 \pm 25,76$  kg a la entrada en el cebadero. El ensayo se llevó a cabo a lo largo de todo el período de cebo hasta su sacrificio.

Siguiendo los mismos criterios que en experimento 1, se excluyeron un total de 18 animales, por padecer SRB antes del día cero.

El resto de los terneros fueron ubicados aleatoriamente, ajustando por peso y temperatura rectal, en cinco corrales de 11-12 terneros por corral. En el día cero del estudio, se tomaron las temperaturas rectales de los 114 terneros incluidos, y se asignaron a dos grupos experimentales: grupo MSF o metafilaxia selectiva donde los terneros sólo recibían metafilaxia antibiótica con florfenicol si tenían una temperatura superior o igual a  $39,7^{\circ}\text{C}$ ; grupo MMT o metafilaxia en masa, donde todos los terneros recibían antibiótico, esta vez asociado a tulatromicina (2,5 mg/kg, SC).

Tanto el florfenicol como la tulatromicina son antibióticos de eficacia probada para su utilización metafiláctica como prevención del SRB (Kilgore *et al.*, 2005; Rooney *et al.*, 2005; Van Donkersgoed *et al.*, 2008b). De hecho, ambos antimicrobianos están registrados para uso metafiláctico en España y son dos de los fármacos más utilizados en los cebaderos comerciales; su uso está respaldado por varios trabajos que han utilizado la metafilaxia con tulatromicina (Booker *et al.*, 2007; Nickell *et al.*, 2008; Step *et al.*, 2007; Van Donkersgoed *et al.*, 2008b).

La presencia de patógenos en este experimento se determinó a partir de muestras de sangre e hisopos nasales tomados en los días 0 y 15, tal y como se describe para el experimento 1. Tanto el peso individual de los animales, como el consumo de alimento por corral y el índice de conversión, se supervisaron semanalmente desde los días 1-28 y cada dos semanas desde el día 29 hasta el sacrificio de los animales. Previo al sacrificio, se recopilaban los datos del peso vivo previamente a la carga de los animales en el camión. Inmediatamente después del sacrificio se evaluaron el peso y rendimiento a la canal, así como las lesiones pulmonares de cada individuo (Bryant *et al.*, 1999; Preto y Neves, 2008).



#### 4.1.3. Tratamientos de los animales enfermos

Del día cero en adelante, se utilizó el mismo protocolo terapéutico para tratar a todos los terneros que desarrollaron SRB, independientemente de si habían recibido previamente metafilaxia o no. Sin embargo, el protocolo fue diferente para cada experimento.

##### 4.1.3.1. Experimento 1

El **primer tratamiento** se realizó con florfenicol (20 mg/kg de peso corporal, IM, Nuflor®; MSD AH, Boxmeer, Holanda) y flunixin meglumine (2,2 mg/kg de peso corporal, IM, repetido a las 48 horas, Finadyne®; MSD AH, Boxmeer, Holanda).

Las **recaídas** se trataron con marbofloxacin (2 mg/kg de peso corporal, IM, cada 24 h, durante tres días consecutivos, Marbocyl 10%®; Vetoquinol, Lure, Francia).

##### 4.1.3.2. Experimento 2

El **primer tratamiento** fue diferente para cada grupo experimental ya que habían recibido un antibiótico diferente previamente:

- los terneros del grupo MSF fueron tratados con florfenicol y flunixin meglumine en primera instancia, tal y como se describe para el experimento 1
- los terneros del grupo MMT fueron tratados con tulatromicina) y flunixin meglumine (producto y dosis descritas anteriormente)

Preferimos utilizar como primer antibiótico el mismo al empleado en la metafilaxia con el fin de cumplir con las buenas prácticas en el uso de antibióticos, lo que significa minimizar el número de antibióticos usados.

Los animales que **no se curaron o que recayeron** en ambos grupos fueron tratados con cefquinoma (2,5 mg/kg, SC, repetido a las 48 h, Cobactan LA®; MSD AH, Boxmeer, Holanda) y con flunixin meglumine como se describe anteriormente.

#### 4.1.4. Análisis laboratoriales

Las siguientes pruebas microbiológicas se realizaron a partir de los hisopos nasales: tinción Gram, Giemsa y cultivo en medios especiales, incluyendo los medios específicos para crecimiento de hongos y para el género *Mycoplasma*. No se utilizó ningún medio de cultivo específico para el género *Histophilus*. Además, se realizó la determinación de anticuerpos frente a DVB, IBR, VRSB y PI-3 en suero utilizando pruebas comerciales de ELISA indirecto (Svanova, Biotech).

#### 4.1.5. Análisis de datos e índices calculados

En ambos experimentos, se registró la tasa de éxito del tratamiento de SRB, definida como el porcentaje de terneros tratados que permaneció sano hasta el final del estudio, y la tasa de fracaso del tratamiento, definido como el porcentaje de terneros tratados que no curaron y/o que requirieron de un tratamiento adicional.

Además, se calcularon los siguientes índices:

- incidencia de SRB =  $(\text{n}^\circ \text{ de animales enfermos durante este período} / \text{n}^\circ \text{ de animales en riesgo}) \times 100$
- tasa de primeras recaídas =  $(\text{n}^\circ \text{ de animales que recayeron después de un tratamiento completo} / \text{n}^\circ \text{ de animales enfermos}) \times 100$
- tasa de segundas recaídas =  $(\text{n}^\circ \text{ de animales que recayeron después de un segundo tratamiento completo} / \text{n}^\circ \text{ de animales que recayeron después de un tratamiento}) \times 100$
- tasa de cronicidad =  $(\text{n}^\circ \text{ de animales con tres recaídas} / \text{n}^\circ \text{ de animales que recibieron al menos un tratamiento completo}) \times 100$
- índice de conversión =  $\text{kg de alimento consumido} / \text{kg de ganancia de peso vivo}$
- porcentaje de rendimiento a la canal =  $(\text{peso de la canal} / \text{peso vivo}) \times 100$

En el grupo de terneros del experimento 1, se evaluó la eficacia diagnóstica del punto de corte de 39,7°C de temperatura rectal, calculándose los siguientes índices estándar definidos para evaluar técnicas diagnósticas (Bruce *et al.*, 2009): valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), eficacia, sensibilidad y especificidad.

#### 4.1.6. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa SPSS® (versión 19.0; IBM, NY, EE.UU). Se confirmó la homogeneidad inicial entre los grupos establecidos al azar mediante la prueba de chi-cuadrado para los parámetros categóricos por los que se establecieron los grupos (sexo); y mediante análisis de la varianza (ANOVA) para los parámetros de ajuste cuantitativos (peso individual a la llegada). La unidad experimental fue el individuo.

El análisis comparativo de la incidencia de la enfermedad entre grupos (con y sin metafilaxia y sanos vs. enfermos de SRB), se efectuó mediante una prueba de chi cuadrado. Los análisis de GMD, así como el tiempo transcurrido hasta el primer caso de SRB se realizaron mediante análisis de la varianza. También se realizó el cálculo del VPP, VPN y de la eficacia y se evaluó el criterio de temperatura con el punto de corte de  $\geq 39,7^\circ\text{C}$  utilizando una comparación de proporciones.

En el experimento 1, la incidencia de enfermedad SRB (sí/no), se valoró mediante tablas de contingencia, utilizando una prueba de chi-cuadrado y se aplicó una *t* de Student para estudiar las variables: temperatura (BT y AT), tratamiento (con y sin

metafilaxia) y tratamiento para cada temperatura (GAT+ vs. GAT- y GBT+ vs. GBT-). Por otro lado, como el estudio se realizó en cuatro réplicas, se evaluó la presencia de interacciones repitiendo el análisis por separado para cada cebadero. Además, se incluyeron ANOVAs (teniendo en cuenta variables como la enfermedad SRB 0/1), incluyendo el cebadero como un factor de confusión, y se llevó a cabo una regresión logística (incluyendo la variable de enfermedad BRD como sí/no), con la temperatura como única variable dependiente.

En todos los análisis realizados se aceptó un nivel de significancia del 5% ( $P < 0,05$ ) para evaluar las diferencias estadísticas.

## **4.2. RESULTADOS**

El día cero (cuando se alcanzó un 10% de prevalencia de SRB) se produjo dos días después de la llegada en la réplica 2 y en el cuarto día después de la llegada a los cebaderos en las réplicas 1, 3 y 4, en el experimento 1; en el experimento 2 el día cero ocurrió al tercer día después de la entrada en el cebadero.

El porcentaje de terneros que presentaba temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  en el día cero fue del 26,4% en el experimento 1 y del 18,9% en el experimento 2.

El total de morbilidad de SRB (morbilidad del período de estudio, más morbilidad antes del día cero) fue del 39,26% en el experimento 1 y del 31,82% en el experimento 2.

### **4.2.1. Experimento 1**

#### **4.2.1.1. Eficacia diagnóstica de los signos clínicos para detectar terneros con alto riesgo de padecer SRB**

La evaluación de los signos clínicos en el día cero mostró que sólo la temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  fue significativamente útil ( $P = 0,02$ ) para predecir futuros casos de SRB, mientras que la depresión mostró una tendencia significativa a ser útil ( $P = 0,09$ ).

Por lo tanto, analizamos el criterio de temperatura rectal  $< 39,7^{\circ}\text{C}$  en el día cero, como herramienta para identificar a los terneros de menor riesgo de padecer SRB. De todos los terneros del experimento 1, el 69,75% (IC del 95%, 62,29-76,30) satisfizo este criterio, que mostró una eficacia diagnóstica de 70,37% (IC del 95%, 62,93-76,86%), una sensibilidad del 92,03%, una especificidad del 20,41%, un VPP del 72,73% (IC del 95%, 64,91-79,36), y un VPN del 52,63% (IC del 95%, 31,71-72,67).

#### 4.2.1.2. Incidencia de SRB y recaídas

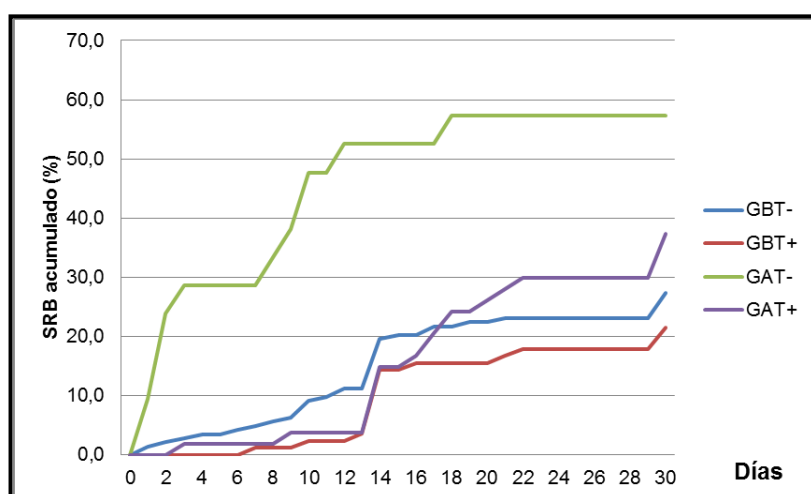
La incidencia de SRB en los diferentes grupos de tratamiento del experimento 1 se presenta en la tabla 15. No se encontraron diferencias significativas entre los terneros GBT con o sin metafílaxia (21,4% GBT+ vs. 27,7% GBT-;  $P=0,33$ ) o entre terneros GAT con o sin metafílaxia (36,6% GAT+ y 52,6% GAT-;  $P=0,24$ ). Sin embargo, los grupos GBT mostraron una incidencia general menor de SRB que los grupos GAT (figura 33).

La tasa de primera recaída fue reducida en todos los grupos (5,6-13,3%), y las diferencias entre los grupos no fueron estadísticamente significativas (tabla 15). No se observó ningún caso crónico de SRB ni mortalidad debida a esta enfermedad.

**Tabla 15.** Índices de enfermedad y ganancia de peso media diaria (GMD) durante los 30 primeros días del cebo en terneros expuestos a un alto riesgo de padecer SRB (experimento 1).

Grupo	N	Incidencia de SRB		Recaídas		GMD	P
		Casos (%)		Casos (%)		Media±DE	
GAT	GAT+	41	15/41 (36,6)	2/15 (13,3)		1,02±0,52	>0,05
	GAT-	19	10/19 (52,6)	1/10 (10)		0,99±0,47	
GBT	GBT+	84	18/84 (21,4)	1/18 (5,6)		1,16±0,45	>0,05
	GBT-	143	39/143 (27,3)	5/39 (12,8)		1,21±0,64	

Abreviaturas: GAT, terneros con alta temperatura rectal ( $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ); GAB, terneros con baja temperatura rectal ( $< 39,7^{\circ}\text{C}$ ); GAT+, terneros GAT y metafílaxia con florfenicol; GAT-, terneros GAT control sin metafílaxia; GBT+, terneros GBT y metafílaxia con florfenicol; GBT-, terneros control sin metafílaxia; GMD, ganancia media diaria (kg/d).



**Figura 33.** Porcentaje acumulado de animales que requirieron tratamiento para SRB en los grupos con metafílaxia (GAT+ y GBT+) y sin metafílaxia (GAT- y GBT-), en 287 terneros llegados a cuatro cebaderos (experimento 1).

Abreviaturas: GAT+: grupo de terneros de alta temperatura ( $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ) con metafílaxia con florfenicol; GBT+: grupo de terneros de baja temperatura ( $< 39,7^{\circ}\text{C}$ ) con metafílaxia con florfenicol; GAT-: grupo de terneros de alta temperatura ( $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ) sin metafílaxia; GBT-: grupo de terneros de baja temperatura ( $< 39,7^{\circ}\text{C}$ ) sin metafílaxia.

#### 4.2.1.3. Ganancia media diaria

La GMD no difirió entre los terneros GBT con y sin metafilaxia (1,16 kg/día GBT+ vs. 1,21 kg/día GBT-;  $P=0,46$ ), ni entre los terneros GAT con y sin metafilaxia (1,02 kg/día GAT+ vs. 0,99 kg/día GAT;  $P=0,83$ ), como se muestra en la tabla 14. Sin embargo, la GMD resultó ser significativamente mayor en los animales sanos ( $n=205$ ; 1,21 kg/día) respecto de la de los animales enfermos ( $n=82$ ; 1,02 kg/día;  $P=0,015$ ), con resultados que muestran que los animales sanos engordan alrededor de 0,19 kg más al día.

#### 4.2.1.4. Resultados de laboratorio: análisis microbiológicos

Los hisopos nasales tomados a la llegada mostraron, en numerosos terneros, presencia de diferentes bacterias involucradas en el SRB, como especies de *Mycoplasma* (68,6%), *Mannheimia haemolytica* (15,7%) y *Pasteurella multocida* (9,7%). Además, hallamos anticuerpos (Ac) frente a los siguientes virus respiratorios: IBR, DVB, PI3 y VRSB en todas las réplicas, excepto en los terneros de la réplica2, donde no se encontró positividad ni a IBR ni a DVB en ningún animal. Tampoco se encontró positividad frente a DVB en la réplica 3. En el día 15, la mayoría de los animales que habían sido negativos a día cero, mostraron Ac frente a estos virus, es decir, seroconvirtieron (tabla 16).

**Tabla 16.** Resultados de serología del día cero y tasas de seroconversión a día 15 para los principales virus respiratorios (IBR, DVB, PI-3, VRSB) en terneros de cebadero.

Expto.	Grupo	N	VIRUS RESPIRATORIOS							
			IBR		DVB		PI-3		VRSB	
			PI (%)	SCN (%)	PI (%)	SCN (%)	PI (%)	SCN (%)	PI (%)	SCN (%)
1	Cebadero 1	88	18,2	2,7	34,1	3,4	72,7	4,2	10,2	32,9
	Cebadero 2	9	0	77,8	0	44,4	66,7	66,7	66,7	100
	Cebadero 3	15	26,7	9,1	0	0	46,6	50	46,6	100
	Cebadero 4	15	6,7	0	20	0	40	100	20	91,7
2	MSF	15	0	0	10	0	40	16,7	70	33,3
	MMT	15	0	0	40	0	50	0	70	66,7

Abreviaturas: PI, positividad inicial o porcentaje de animales positivos a día "0" del estudio; SCN, porcentaje de animales con seroconversión en el día 15 del estudio; MSF, grupo de terneros con metafilaxia selectiva con florfenicol llevada a cabo en terneros que tuvieron  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ; MMT, grupo de terneros con metafilaxia en masa con tulatromicina llevada a cabo en todos los animales.

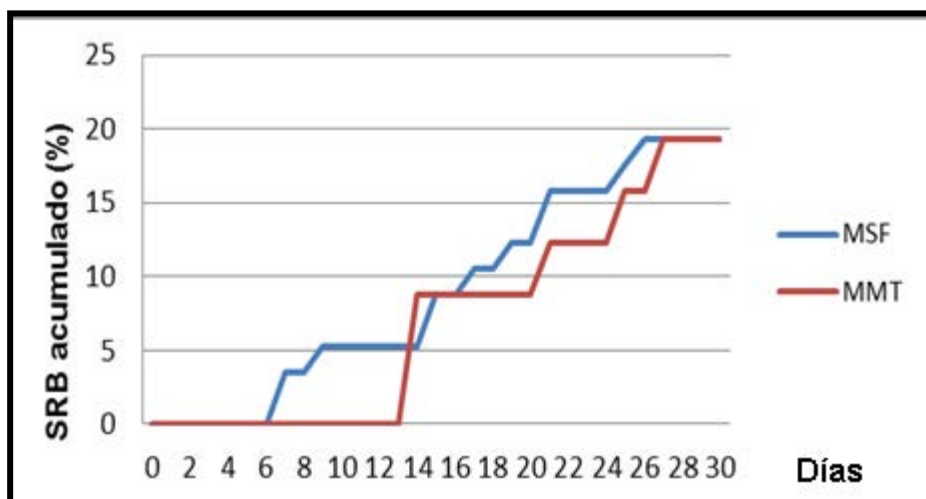
#### 4.2.2. Experimento 2

Aunque la distribución entre grupos se hizo de manera aleatoria ajustando por peso y temperatura rectal (semejante proporción de animales con temperatura  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ), esta proporción se verificó posteriormente y resultó ser del grupo MSF, y 20,3% de los terneros del grupo MMT. Aun así, esta diferencia numérica no fue estadísticamente significativa ( $P>0,05$ ).

##### 4.2.2.1. Incidencia de SRB y recaídas

A pesar del hecho de que sólo el 17,5% de los terneros del grupo MSF fueron tratados en el día cero, en comparación al 100% de los terneros tratados del grupo MMT, los dos grupos mostraron una incidencia similar de SRB durante los primeros 30 días del cebo (19,3% vs. 19,3%,  $P=1$ ; fig. 34).

La tasa de recaída durante los primeros 28 días del estudio tampoco difirió significativamente entre grupos (18,3% MSF vs. 30% MMT,  $P=0,52$ ), al igual que ninguno de los parámetros recogidos hasta el momento del sacrificio: incidencia de SRB (24,6% MSF vs. 28,1% MMT;  $P=0,67$ ), tasa de primeras recaídas (21,4% MSF vs. 31,3% MMT;  $P=0,54$ ); (tabla 16), y tasa de segundas recaídas (33% MSF vs. 20% MMT;  $P=0,67$ ). Por otro lado, se observó un solo caso de SRB de tipo crónico en el grupo MMT, y no hubo mortalidad asociada a SRB en ninguno de los grupos.



**Figura 34** Porcentaje acumulado de terneros de cebo que requirieron tratamiento para SRB en los grupos MSF y MMT durante los primeros 30 días del periodo de cebo (experimento 2). Abreviaturas: MSF: grupo de metafilaxia selectiva con florfenicol administrada a los animales con temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ; MMT: grupo de metafilaxia en masa con tulatromicina.

#### 4.2.2.2. Ganancia media diaria

Durante los primeros 28 días del cebo, los terneros MMT mostraron una mejor GMD ( $1,30 \pm 0,27$  kg/día MSF vs.  $1,42 \pm 0,21$  kg/día MMT;  $P=0,01$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas cuando se tuvo en cuenta todo el periodo de cebo ( $1,29 \pm 0,17$  kg/día MSF vs.  $1,34 \pm 0,18$  kg/día MMT,  $P=0,57$ ; tabla 17).

**Tabla 17.** Índices de enfermedad y resultados productivos durante los primeros 28 días del periodo de cebo de terneros al comparar un grupo de metafilaxia selectiva con florfenicol y otro grupo de metafilaxia en masa con tulatromicina (experimento 2).

Grupo	N	Incidencia de SRB Casos (%)	Tasa de recaídas Casos (%)	GMD (kg/d) Media $\pm$ DE	Índice de conversión (kg) Media $\pm$ DE	Rendimiento a la canal (%)	P
MSF	57	14/57 (24,6)	3/14 (21,4)	$1,29 \pm 0,17$	$5,35 \pm 0,36$	48,61	>0,05
MMT	59	16/59 (27,1)	5/16 (31,3)	$1,34 \pm 0,18$	$5,34 \pm 0,27$	49,30	

Abreviaturas: MSF, grupo de terneros con metafilaxia selectiva con florfenicol administrada a los animales con temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ; MMT, grupo de terneros con metafilaxia en masa con tulatromicina administrada en todos los animales; GMD, ganancia media diaria (kg/d).

#### 4.2.2.3. Consumo de alimento, índice de conversión y porcentaje de rendimiento a la canal

No se encontraron diferencias significativas en el índice de conversión durante los primeros 28 días de engorde, aunque se observó una tendencia a ser levemente menor en el grupo MMT ( $3,95 \pm 0,84$  kg MSF vs.  $3,70 \pm 0,58$  kg MMT;  $P=0,07$ ). No hubo diferencias cuando se valoró todo el periodo de cebo ( $5,35 \pm 0,36$  kg MSF vs.  $5,34 \pm 0,27$  kg MMT;  $P=0,96$ ); (tabla 17).

Finalmente, tampoco hubo diferencias significativas entre grupos en el rendimiento a la canal (48,61% para MSF vs. 49,30% para MMT;  $P=0,19$ ).

#### 4.2.2.4. Lesiones pulmonares

No se observó ninguna diferencia significativa en las lesiones pulmonares observadas en los diferentes grupos (38,6% MSF vs. 36,4% MMT;  $P=0,83$ ). La lesión encontrada con mayor frecuencia fue la atelectasia focal. Un total del 37,1% de los terneros no tratados para SRB tenía lesiones pulmonares y un 45,5% de los animales tratados mostraron, al menos, una lesión pulmonar. Tampoco se observaron diferencias entre grupos en el porcentaje de terneros con lesiones pulmonares que mostraban adherencias entre los lóbulos pulmonares o adherencias entre los lóbulos y otros órganos (42,1% MSF vs. 45,5% MMT;  $P=0,72$ ). Por último, sólo se observó un caso de pleuritis en cada grupo (1,75% MSF vs. 1,82% MMT;  $P=0,98$ ).

#### **4.2.2.5. Resultados de laboratorio: análisis microbiológicos**

Los hisopos nasales tomados en el día cero mostraron presencia en los terneros de diferentes bacterias implicadas en el SRB: *P. multocida* (13,8%), *M. haemolytica* (6,9%) e *Histophilus somni* (1,7%). Las serologías realizadas frente a virus respiratorios encontraron Ac frente a los diferentes virus respiratorios, a excepción de IBR. En el día 15, la mayoría de los animales que habían sido negativos en el día cero mostraban Ac frente a estos virus, es decir, habían seroconvertido, a excepción de frente a los virus IBR y DVB (tabla 16).

#### **4.2.3. Reacciones adversas**

No se observó ninguna reacción adversa después de los tratamientos en ninguno de los experimentos.



### 4.3. DISCUSIÓN

En el experimento 1 se demostró que, de todos los signos clínicos valorados, solamente la temperatura rectal, con un punto de corte  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ , resultó tener valor diagnóstico significativo ( $P=0,02$ ) para predecir futuros casos de SRB. Además, no se encontró ningún efecto significativo de la metafilaxia sobre la incidencia o la GMD durante los primeros 30 días de engorde en el grupo GBT. Del mismo modo, en el experimento 2 tampoco se encontraron diferencias significativas entre la metafilaxia parcial o en masa sobre la incidencia de SRB, la GMD, el índice de conversión, el rendimiento a la canal o la incidencia de lesiones pulmonares durante todo el período de cebo.

Está aceptado el hecho de que no todos los terneros de una misma población requerirían el tratamiento metafiláctico, por lo que se requiere de criterios para tomar la decisión de aplicación de la metafilaxia en determinados grupos de animales (Smith *et al.*, 2001). El uso de la temperatura rectal como un criterio para la terapia metafiláctica se ha debatido durante mucho tiempo. Smith y colaboradores argumentaron que si la temperatura rectal se utilizaba como un criterio para el tratamiento de los terneros a la llegada, se tratarían menos animales, se reduciría el coste de los tratamientos y el uso de antibióticos (Smith *et al.*, 2001). Sin embargo, Vogel y colaboradores aplicaron un criterio de temperatura rectal  $>40^{\circ}\text{C}$ , y compararon el tratamiento basado en la fiebre con la metafilaxia en masa usando tilmicosina (Vogel *et al.*, 1998). En este estudio, vieron una mayor morbilidad de SRB en el grupo de metafilaxia selectiva (44,7 vs. 30,4%;  $P=0,03$ ), concluyendo que era una práctica poco recomendable. Estos resultados podrían explicarse por el uso de un punto de corte de temperatura excesivamente alto; en realidad estarían tratando exclusivamente animales ya enfermos de SRB, no en fases iniciales, subclínicas, ya que muchos de estos animales que presentaban  $>40^{\circ}\text{C}$  podían estar ya enfermos (Smith *et al.*, 2001).

De acuerdo con nuestros resultados, Galyean utilizó una temperatura rectal de corte de  $39,7^{\circ}\text{C}$  para la administración de metafilaxia selectiva y obtuvieron resultados prometedores (Galyean *et al.*, 1995). No encontraron diferencias en la incidencia de SRB ni en la GMD entre la metafilaxia en masa y la selectiva. Además, tanto la metafilaxia selectiva como en masa provocó significativamente una menor incidencia de SRB que en el grupo control sin metafilaxia (12,9% y 11,9% vs. 43,6%, respectivamente;  $P<0,01$ ) y se obtuvo una GMD significativamente mayor durante los primeros 26 días de cebo que el grupo control (0,30 y 0,32 kg/día, respectivamente;  $P<0,01$ ). A pesar de estos resultados prometedores, la metafilaxia selectiva no se estudió posteriormente más a fondo.

En nuestro estudio, el criterio de temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  demostró ser un criterio diagnóstico válido ( $P=0,02$ ) para predecir futuros casos de enfermedad respiratoria, lo que apoya la validez de una temperatura rectal  $<39,7^{\circ}\text{C}$  como criterio para la identificación de los terneros que no requieren metafilaxia. En contraste, el signo clínico de depresión sólo mostró tendencia estadística para poder ser utilizada como diagnóstico ( $P=0,09$ ). Schaefer y colaboradores compararon la eficacia predictiva del examen clínico convencional (55%) y la termografía infrarroja (71%); (Schaefer *et al.*,

2007). El criterio de temperatura mostró una eficacia del 70,37% en nuestro estudio, similar a la de la termografía infrarroja en este trabajo citado. En contraste con la termografía, sin embargo, la temperatura rectal es un procedimiento objetivo, de bajo coste, que no exige ninguna habilidad o experiencia personal, y que es fácil de realizar bajo condiciones de campo en los cebaderos europeos.

Los terneros del grupo GBT realmente no mostraron ninguna ventaja de haber recibido el tratamiento metafiláctico, ya que ni la morbilidad, ni la mortalidad ni el rendimiento fueron diferentes entre los grupos experimentales, en el experimento 1. Estos resultados son acordes a los del grupo de Galyean (Galyean *et al.*, 1995). Sin embargo, y en contraste con estos autores, nosotros no observamos diferencias significativas en la incidencia de SRB entre terneros GAT con y sin metafilaxia (36,6% GAT+ y 52,6% GAT-;  $P=0,24$ ), aunque la diferencia numérica (16/100 terneros GAT) podría ser clínicamente importante. Los resultados de laboratorio confirmaron la presencia y la transmisión de patógenos respiratorios (virus y bacterias) que se encuentran habitualmente en los cebaderos. Por lo tanto, la falta de diferencias entre estos grupos no puede atribuirse a la falta de agentes infecciosos en los terneros. En su lugar, la ausencia de diferencias significativas podría reflejar el hecho de que el número de terneros con temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  a la llegada en nuestro estudio (60 terneros, 20,90%) fue inferior al 37,67% del estudio de Galyean (Galyean *et al.*, 1995). Para detectar como diferencia significativa el 16% de incidencia de SRB, habría sido necesario un mayor número de terneros con temperaturas rectales  $>39,7^{\circ}\text{C}$ . Por esta razón, el poder estadístico de la parte de nuestro estudio relativo a los animales GAT sería demasiado bajo como para sacar conclusiones definitivas, requiriéndose más estudios para profundizar en las causas de este resultado. Cuando comparamos nuestro estudio con otros estudios de metafilaxia selectiva, es importante tener en cuenta cuándo se ha aplicado la metafilaxia en cada uno de ellos. En el caso del trabajo de Galyean se aplicó inmediatamente después de la llegada al cebadero (Galyean *et al.*, 1995). En el trabajo de Vogel se aplicó entre 24-36 horas después de la llegada y 2-4 días después de la llegada, y tras alcanzar una incidencia de SRB del 10%, en nuestro estudio (Vogel *et al.*, 1998). Este retraso puede haber reducido la eficacia de la metafilaxia selectiva en el presente estudio. Sin embargo, con este retraso podemos estar seguros de que estamos tratando terneros de alto riesgo de desarrollar SRB.

En el experimento 2 se comparó la eficacia de la metafilaxia selectiva y en masa, en poblaciones mixtas de terneros GBT y GAT, durante todo el período de cebo, hasta el sacrificio de los animales. En su estudio, Galyean encontró similares resultados a los de nuestro estudio en los parámetros de salud y productividad (Galyean *et al.*, 1995), mostrándose igual de eficiente la metafilaxia selectiva con florfenicol y la metafilaxia en masa con tulatromicina en el presente trabajo. Sin embargo, en ausencia de un verdadero grupo control, no se puede determinar si uno fue más eficaz que el otro a la hora de reducir la incidencia de SRB. Además, debemos considerar el menor número de animales en este experimento, lo que debilita un poco los resultados, a pesar de la ausencia de diferencias significativas entre ambos grupos. Los resultados de morbilidad, mortalidad y GMD observados en el experimento 2 están en consonancia con los de Galyean durante el primer periodo del cebo (28 días) y la ausencia de

diferencias significativas entre los grupos persistió al analizar todo el periodo de cebo (~237 días; Galyean *et al.*, 1995).

Lo que es realmente sorprendente en este trabajo fue la ausencia de mortalidad y, la baja incidencia de casos crónicos en ambos experimentos. La primera duda es que no estuvieran en alto riesgo de padecer SRB, de acuerdo a los criterios de Smith y colaboradores (Smith *et al.*, 2001). Sin embargo, en base a su origen, peso y tiempo de transporte sí cumplirían las premisas y, por otro lado, iniciamos nuestro estudio únicamente después de alcanzar una morbilidad superior al 10% de SRB durante 2-3 días consecutivos (Edwards, 2010; Smith *et al.*, 2001). Es más, la morbilidad general alcanzada durante los ensayos fue similar a la observada en otros estudios con animales de alto riesgo (Babcock *et al.*, 2010). En nuestra opinión, la menor mortalidad y tasa de enfermos crónicos responde más al seguimiento diario de los terneros realizado por veterinarios con experiencia, lo que permitió un diagnóstico muy temprano de SRB y el tratamiento inmediato de los animales enfermos.

#### **4.4. CONCLUSIONES**

La temperatura rectal  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  a la llegada al cebadero es un indicador diagnóstico válido para la detección de terneros con mayor riesgo de padecer SRB durante el periodo de cebo. En base a los resultados de nuestros estudios, la metafilaxia selectiva utilizando este punto de corte de temperatura rectal disminuye el coste derivado de los medicamentos, reduce el uso de antibióticos y resulta en una manipulación menos intensiva de los terneros que la metafilaxia en masa; obteniéndose los mismos resultados sanitarios y productivos que con la metafilaxia total.

## **CAPÍTULO 2**



## 5. CAPÍTULO 2

### **La toracoscopia: una aproximación diagnóstica innovadora al síndrome respiratorio bovino**

Como ya hemos comentado en apartados anteriores, la toracoscopia es una técnica quirúrgica con grandes posibilidades de uso para el diagnóstico del SRB bovino, aunque hasta ahora, la información publicada sobre su utilización en esta especie es escasa (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014; Van Biervliet *et al.*, 2006).

Por lo tanto, los objetivos de la segunda aproximación experimental de esta Tesis Doctoral (objetivos específicos 3 y 4) consistieron, en primer lugar, en evaluar la utilidad de la toracoscopia como una técnica diagnóstica y pronóstica segura, válida y factible en terneros enfermos en condiciones de campo, manteniendo el bienestar de los animales (experimento 1); y en segundo lugar, en determinar y describir el protocolo de aplicación de la técnica (abordaje quirúrgico, equipos, posición del animal, etc.) para realizar esta técnica de manera segura y eficaz, también en condiciones de campo (experimento 2).

Estos resultados se han incluido en el manuscrito titulado “*Perez-Villalobos N, Espinosa-Crespo I, Sampayo Cabrera J, González Martín J-V, Gonzalez-Bulnes A, Astiz S. THORACOSCOPY: an innovative approach to improve diagnosis of the Bovine Respiratory Disease in calves*” entregado para su publicación en la revista científica *Veterinary Surgery*, actualmente en revisión.

#### **5.1. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### **5.1.2. Animales, instalaciones y equipamiento**

Se incluyeron en el estudio un total de diez terneros holstein y nueve terneros de cruces de razas comerciales con un peso vivo (PV) de entre 60 y 280 kg (media de PV de  $132,39 \pm 76,82$  kg). De éstos, 17 animales se consideraron enfermos crónicos de SRB según los siguientes criterios: temperatura rectal de  $\geq 40^{\circ}\text{C}$ , dos o más signos clínicos de SRB (tos, secreción nasal purulenta, disnea, polipnea, etc.), dos o más tratamientos antibióticos sin curación y un notable retraso en el crecimiento o bien una importante pérdida de peso (Pardon *et al.*, 2013). Además, se utilizaron dos animales sanos como control.

Los terneros procedían de cebaderos comerciales y todos los procedimientos se llevaron a cabo, bien en las instalaciones de Hospitalización de Grandes Animales del Hospital de la Facultad de Veterinaria (Universidad Complutense, de Madrid, España), bien en las propias instalaciones de la granja. Todas las manipulaciones en animales se realizaron de acuerdo a la normativa española sobre protección animal RD1201/05, que es transposición de la Directiva de la Unión Europea 86/609 sobre la protección de los animales utilizados en experimentación.

### ***Equipo técnico: endoscopios y videoscopios industriales***

Partiremos del conocimiento genérico de que:

- Los endoscopios rígidos pueden usarse para realizar laparoscopia, son más económicos que los flexibles, permiten la esterilización por autoclavado y ofrecen una gran calidad de imagen y la posibilidad de utilizar el canal de trabajo.
- Los endoscopios flexibles o broncoscopios cuentan con todas las ventajas de los rígidos salvo la posibilidad de su esterilización por calor, permitiendo tan sólo la esterilización química. Permiten una mayor movilidad y maniobrabilidad pero tienen la desventaja de su alto coste.
- Los videoscopios industriales son mucho más económicos y portátiles que los endoscopios, pero tampoco pueden esterilizarse por calor. Además, muchos modelos se calientan en exceso y la fuente de luz que tienen no permite obtener las imágenes de la calidad que ofrecen los endoscopios.

En base a esta información, en nuestro estudio se utilizaron los siguientes equipos:

- Equipamiento 1: endoscopio rígido (Storz GmbH & Co) con una longitud de 1 m, diámetro de 4 mm, trocar de laparoscopia (tipo Terman) con 5 mm de diámetro interno (figura 35).
- Equipamiento 2: equipo flexible (Flexible Broncoscopios Storz/ Braun) con un diámetro de 6 mm con canal de trabajo y un diámetro de 6 mm (figura 36).
- Equipamiento 3a: videoscopio industrial de características similares al endoscopio flexible: con la capacidad de formación de imágenes de baja calidad (Panter F3000, portátil; diámetro de 5 mm y 170 grados de rotación; figura 37).
- Equipamiento 3b: videosocopio industrial con capacidad de proyección de imagen de alta calidad (XL Vu GE Sensing & Inspection, portátil; diámetro de 5 mm y 80 grados de rotación; figura 38).



**Figura 35.** Endoscopio rígido.



**Figura 36.** Endoscopio flexible.



**Figura 37.** Videoscopio industrial de baja calidad.

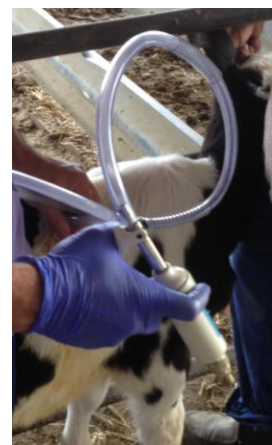


**Figura 38.** Videoscopio industrial de alta calidad.

Se utilizaron trócares metálicos tipo Terman modificado y cánulas de plástico con 6-10mm de diámetro, para introducir la óptica en el tórax (figura 39). La extracción del aire introducido en la cavidad torácica se realizó, en los casos considerados necesarios, mediante un sistema compuesto de una pistola conectada a un tubo y éste al trocar (figura 40).



**Figura 39.** Trócares plástico (superior) y metálico (inferior).



**Figura 40.** Pistola de extracción de aire.

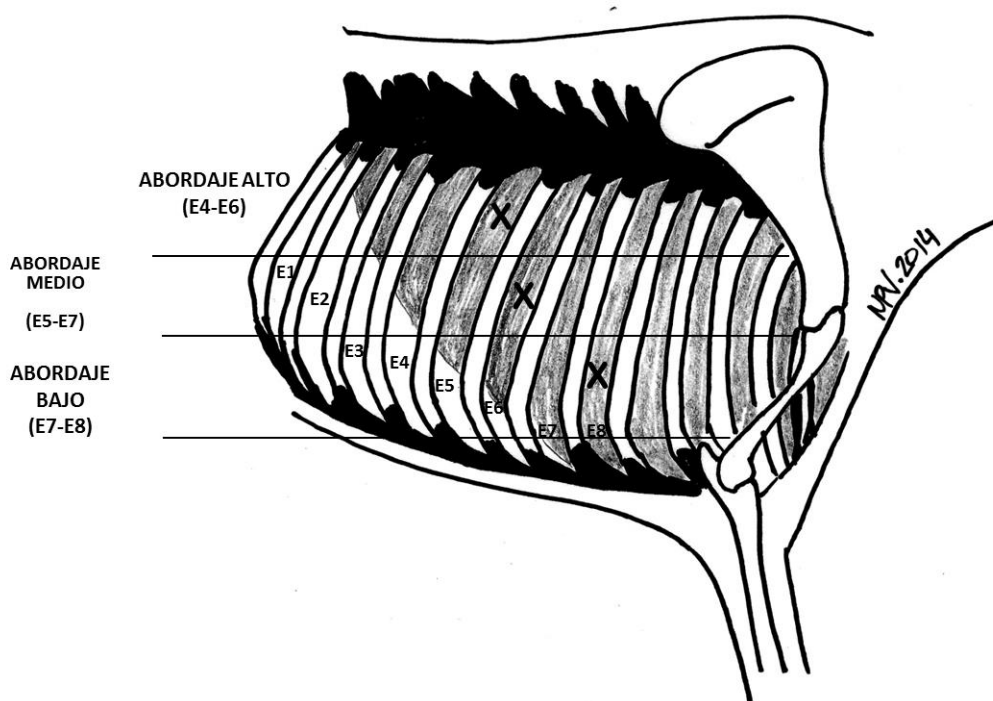


### 5.1.3.Procedimiento quirúrgico

Los animales se inmovilizaron mediante una cabezada amarrada a una manga portátil, cuando se trabajó bajo condiciones experimentales en el Hospital Veterinario y amarrados a mangas fijas en condiciones de campo. Todas las cirugías se realizaron con los terneros en estación, excepto en el caso de un ternero que padecía una fractura de fémur que impedía su incorporación. Se aplicaron 5ml de anestésico local, lidocaína al 2% con adrenalina al 2‰ (Xilocaína® Laboratorios Ovejero SA, León, España) en el área de incisión, por vía subcutánea. Sólo en cuatro casos y en animales muy temperamentales se aplicó además 1 ml de Xylacina al 2% intravenosa (Rompun®, Bayer Iberia SL, Barcelona, España).

Los abordajes quirúrgicos seleccionados para insertar los toracoscopios fueron los siguientes: abordaje dorso-caudal (ALTO), medio (MEDIO) y cráneo-ventral (BAJO), tal y como se observa en la figura 41. Para una mayor comodidad de los endoscopistas, se utilizó el orden inverso (caudo-craneal) para determinar los espacios intercostales, como se aprecia en la figura 41, de modo que el primer espacio se correspondía con el número duodécimo del orden cráneo-caudal, el segundo con el undécimo y así sucesivamente.

Se utilizó preferentemente el lado derecho del animal, ya que el lóbulo craneal derecho suele ser el primero y más afectado en los casos de SRB (Epperson, 2003).



**Figura 41.** Áreas de bordaje quirúrgico usadas para insertar el trócar de toracoscopia en terneros afectados por SRB. X= abordaje recomendado para cada área respectiva; E= respectivo espacio intercostal en orden caudo-craneal.

### 5.1.4. Medidas y parámetros

Se evaluaron cuatro tipos de variables y parámetros, como se observa en la tabla 18, que fueron los siguientes:

#### A. Parámetros dependientes del individuo (“Parámetros del animal”)

1. Temperatura rectal en el momento de la intervención ( $T^a$ ; en °C)
2. Peso vivo (en kg) en el momento de la toracoscopia (PV1) y 22 días después (PV2).
3. Respiraciones medias por minuto (RPM) pre- (RPM1), durante (BPM2) y pos-intervención (RPM3)
4. Fibrinógeno (en mg/dl) en el momento de la primera toracoscopia (F1); y 6 días después de la segunda (F2) (sólo en animales del experimento 1)
5. Examen radiológico y ecográfico inmediatamente anterior a la toracoscopia (sólo en animales del experimento 1)

#### B. Parámetros relativos a la técnica (“Parámetros técnicos”)

1. Duración de la intervención (T; en minutos)
2. Aire extraído (AE; en ml), sólo en animales del experimento 1
3. Alcance de visualización (AV; basada en el área de visualización. Valores de 1 a 4):
  - i. EXCELENTE (AV=1): permite visualizar completamente los lóbulos craneales e introducir la óptica entre ellos.
  - ii. ÓPTIMO (AV=2): permite visualizar completamente los lóbulos craneales.
  - iii. VÁLIDO (AV=3): permite la visualización periférica de los lóbulos craneales.
  - iv. INVÁLIDO (AV=4): no permite la visualización de los lóbulos craneales sin sufrimiento del animal.
4. Calidad de la imagen (CI): incluyendo la claridad de la imagen, la fuente de luz, la capacidad de enfoque y el pixelado del zoom. Se evaluó mediante una escala desde EXCELENTE (CI=1), MODERADO (CI=2) o MALO (CI=3)

#### C. Parámetros relativos a la seguridad de la técnica (“Parámetros de seguridad”) medidos en base a diferentes clasificaciones:

1. Índice de dolor (ID; values from 1 to 4):
  - i. NADA (ausencia de signos de dolor). ID=1
  - ii. LEVE (de 1 a 3 vocalizaciones). ID=2
  - iii. MODERADO (>3 vocalizaciones). ID=3
  - iv. ALTO (>3 vocalizaciones durante la intervención y caídas repetidas). ID=4
2. Periodo de recuperación (PR; valores de 1 a 4):
  - i. INMEDIATO: cuando realizan comportamientos fisiológicos como comer, beber o rumiar durante los primeros 15 minutos tras la toracoscopia. PR=1
  - ii. RÁPIDO: los mismos comportamientos que para PR1 durante los primeros 15-30 min tras la toracoscopia. PR=2

- iii. MEDIO: los mismos comportamientos que para PR1 durante los primeros 30-60 min tras la toracoscopia. PR=3.
- iv. TARDÍO: los mismos comportamientos que para PR1 desde la primera hora pos-toracoscopia hasta las 24 horas posteriores. PR=4

- 3. Riesgo de laceración o perforación pulmonar (RL; valores de 1 a 3)
  - i. BAJO: más de 1 cm de espacio de separación entre el trocar y el tejido pulmonar. RL=1
  - ii. MEDIO: aproximadamente 1 cm de espacio de separación entre el trocar y el tejido pulmonar. RL=2.
  - iii. ALTO: entrada del trocar extremadamente cerca del tejido pulmonar: espacio inferior a 1cm. RL=3
- 4. Complicaciones intraoperatorias. Descripción
- 5. Riesgo de colapso pulmonar pasivo (RC; sí/no). De acuerdo a los siguientes síntomas: disnea grave o incremento de RPM por encima del 50% del valor de RPM1

D. Parámetros relativos al resultado diagnóstico de la exploración: lesiones observadas relacionadas con SRB:

- i. Adherencias (sí/no)
- ii. Edema (sí/no)
- iii. Enfisema (sí/no)
- iv. Lesiones agudas (sí/no)
- v. Lesiones crónicas (sí/no)
- vi. Abscesos (sí/no)
- vii. Otros hallazgos: descripción

Las lesiones se calificaron como agudas cuando el tejido pulmonar mantenía un volumen similar al fisiológico, con la superficie lisa y un color hiperémico (Jubby Kennedy, 1991), mientras que se consideraron lesiones crónicas cuando el tejido pulmonar aparecía comprimido (menor volumen) y con un color pálido (gris o gris amarillento; adaptado de Jubby Kennedy, 1991).

**Tabla 18.** Medidas y parámetros, clasificados por categorías, valorados en el estudio de aplicación de la toracoscopia en terneros de cebo enfermos con SRB.

Tipo de parámetro	Descripción	Clasificación/ Puntuación	Definición de la clasificación	Explicación adicional del parámetro
A	Tª (°C)	Temperatura rectal		
	PV (kg)	PV1	PV en el momento de la TC	
		PV2	PV 22d después de la 1ª TC	
	RPM	RPM1	RPM pre-TC	
		RPM2	RPM durante la TC	
		RPM3	RPM post-TC	
F (mg/dl)	F1	F previo a la TC		
	F2	F 6d después de la 2ª TC		
B	T (min)	Duración de la TC		
	AE (ml)	Volumen de aire extraído		
	AV (1-4)	1	Excelente	Vista completa de los LC incluso entre lóbulos
		2	Óptimo	Vista completa de los LC
		3	Válido	Vista periférica de los LC
		4	Inválido	Sin visualización de los LC
	CI (1-3)	1	Excelente	
		2	Moderado	
		3	Malo	
	C	ID (1-4)	1	Ninguno
2			Leve	1 - 3 vocalizaciones
3			Moderado	>3 vocalizaciones
4			Alto	>3 vocalizaciones y caídas
PR (1-4)		1	Inmediato	Comen, beben y/o rumian en los primeros 15 minutos post-TC
		2	Rápido	= PR 1 durante los primeros 15-30m post-TC
		3	Medio	= RT 1 durante los primeros 30-60m post-TC
		4	Tardío	= RT 1 >60m post-TC
RL (1-3)		1	Bajo	> 1cm entre trócar y pulmón
		2	Medio	~1cm entre trócar y pulmón
		3	Alto	<1cm entre trócar y pulmón
CIO	Complicaciones intraoperatorias			Descripción
RC (%)	Riesgo de colapso pulmonar pasivo			Sí o no
D	LO	Adherencias		Sí o no
		Edema		Sí o no
		Enfisema		Sí o no
		Lesiones agudas		Sí o no
		Lesiones crónicas		Sí o no
		Abscesos		Sí o no
		Otras		

A= parámetros del animal; B= parámetros técnicos; C= parámetros de seguridad; D=diagnóstico; TC= toracoscopia; LC= lóbulos craneales.

### **5.1.5. Diseño experimental**

Se realizaron dos experimentos:

#### **5.1.5.1. Experimento 1**

El objetivo del primer experimento fue comprobar la seguridad de la técnica en los terneros enfermos con una óptica rígida (equipo 1) y bajo condiciones experimentales. Durante la primera toracoscopia, a dos de los tres terneros se les practicó dos abordajes diferentes. Además, se realizó una repetición de la toracoscopia 22 días después de la primera, con el fin de determinar las posibles lesiones derivadas de la primera intervención, ahora sí con un único abordaje por intervención; en ella, se valoraron principalmente la aparición de adherencias, depósitos de fibrina, y signos de sangrado previo o petequias, resultantes de la primera toracoscopia.

Para ello se hospitalizaron tres terneros de raza holstein, enfermos crónicos de SRB, en el Hospital Veterinario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense, de Madrid durante un mes y medio aproximadamente. Estos terneros pesaban entre 60 y 75,6 kg (media de PV de  $69,22 \pm 7,53$  kg).

Se evaluaron todos los parámetros descritos anteriormente (apartados A, B, C y D de las variables evaluadas).

Se realizaron además pruebas diagnósticas adicionales (ecografía y radiografía) efectuadas por un veterinario con experiencia en dichas técnicas, con el fin de comparar diferentes técnicas de diagnóstico.

#### **5.1.5.2. Experimento 2**

El segundo experimento tuvo como objetivo determinar el equipo más adecuado (endoscopio vs. videoscopio industrial), la técnica ideal y el abordaje quirúrgico más apropiado, prestando especial atención a la seguridad de los protocolos y al bienestar animal.

Basándose en la experiencia del experimento 1, se seleccionaron los equipos flexibles (tipos 2, 3a y 3b) para ser utilizados en el experimento 2, y mejorar así la seguridad y el bienestar de los animales.

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron a lo largo de 12 meses, con un total de 18 torascopias en 16 terneros (11 holstein y 5 terneros mestizos); nueve de ellas realizadas mediante endoscopios flexibles (equipo 2), cinco mediante un videoscopio industrial de alta calidad (equipos 3a) y cuatro con un videoscopio industrial de baja calidad (equipo 3b).

El PV medio de los animales fue de 132,39 kg (70 a 280 kg). Todos los terneros mostraron evidencias de enfermedad crónica de SRB después de los síntomas

descritos anteriormente, con la excepción de dos terneros sanos utilizados como control.

Tres de las toracoscopias se realizaron bajo condiciones experimentales en terneros hospitalizados (en el Hospital Veterinario), mientras que las otras 15 toracoscopias se realizaron en cebaderos comerciales, en condiciones de campo.

### **5.1.6. Procesado de datos y estadística descriptiva**

Se llevó a cabo el estudio descriptivo de los resultados, para lo que se calcularon las medias y las desviaciones típicas (DE) de las variables continuas y, en el caso de las variables discontinuas, se aportaron los valores en forma de porcentajes. Las comparaciones de valores de variables continuas se efectuaron mediante ANOVA y las comparaciones de las variables discretas, expresadas en porcentajes, mediante una prueba de chi cuadrado. Todas las diferencias estadísticas se consideraron significativas para valores de  $P < 0,05$  y tendencia con valores de  $P < 0,1$ . El paquete estadístico utilizado fue SPSS®, versión 22.0 (IBM, NY, EE.UU.).

## **5.2. RESULTADOS**

### **5.2.1. Experimento 1**

#### *A. Resultados de los parámetros dependientes del individuo. Parámetros del animal*

Como se muestra en la tabla 19, tanto en el primer como en el segundo procedimiento, todos los animales se mantuvieron sin fiebre hasta 22 días después ( $38,7 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$  y  $38,9 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$ , respectivamente). La evaluación de la temperatura durante los días posteriores no mostró animales febriles. Todos los terneros aumentaron su peso corporal durante el mes siguiente a la primera y la segunda cirugía (promedio diario de ganancia  $536 \pm 206,15$  g). La frecuencia respiratoria fue moderada en todos los procedimientos antes, durante y después de la toracoscopia. El fibrinógeno plasmático no mostró ningún aumento atribuible a la toracoscopia. De hecho, los valores disminuyeron entre el primer y el segundo muestreo ( $933,3 \pm 1$  vs.  $97,68 \pm 600,0 \pm 282,84$ ), respectivamente (tabla 19).

Además de los criterios de inclusión clínicos de enfermedad, las pruebas de diagnóstico adicionales (ecografía y radiografía) mostraron evidencia de lesiones en los pulmones en los tres terneros explorados, con un posible patrón mixto en los lóbulos pulmonares craneales, pero el diagnóstico del tipo y estadio de las lesiones no fue concluyente.

## B. Resultados de los parámetros relativos a la técnica. Parámetros de la técnica

Todas las intervenciones duraron entre 8 y 23 min ( $16 \pm 4,8$  y  $14 \pm 4,5$  min en la primera y segunda toracoscopia, respectivamente), aunque las dos primeras toracoscopias duraron más tiempo porque realizamos dos abordajes por cirugía, mientras que tan sólo realizamos uno por cirugía en el resto de toracoscopias.

El volumen del aire extraído (AE) desde el tórax osciló entre 1.600 ml y 2.100 ml en la primera intervención y de 0 ml a 1.750 ml en la segunda cirugía, sin ningún efecto negativo sobre el tiempo de recuperación de los animales (PR 3 vs. 1 en primera y segunda toracoscopia, respectivamente).

**Tabla 19.** Evaluación de las diferentes variables de los parámetros del animal (parámetros tipo A), de la técnica (parámetros tipo B) y de la seguridad (parámetros tipo C) en terneros de cebo con SRB tras la aplicación de toracoscopias. El experimento 1 se realizó en terneros hospitalizados y el experimento 2, fundamentalmente en condiciones de campo.

Tipo de parámetro	Parámetro	Experimento 1 (n=3)	Experimento 1 repetición (n=3)	Experimento 2 (n=18)
A	T <sup>a</sup> (°C)	38,7±0,25	38,9±0,45	39,4±0,53
	PV1/PV2 (kg)	PV1 70,4±7,33	PV2 85,3±13,02	PV1 157,8±79,74
	RPM1	68±4	70±5	69±9
	RPM2	92±11	90±7	84,0±16
	RPM3	80±4	70±6	69±8
	F1 / F2	F1 933,3±197,68	F2 600,0±282,84	-
B	T (min)	16±4,86	14,3±4,50	14,8±3,84
	AE (ml)	1900±216,02	583,3±824,95	0
	AV (de 1 a 4)	2,2±0,75	2±0	4±0
C	ID (de 1 a 4)	3,2±0,40	3±0	2,2±0,53
	PR (de 1 a 4)	3±0	1±0	2,4±1,01
	RL (de 1 a 4)	2,2±0,75	2±0	1,2±0,50
	RC (%)	0%	0%	5,6% (1/18)

Parámetros A= parámetros del animal: T<sup>a</sup>: temperatura rectal en el momento de la intervención (°C); PV1: peso vivo en el momento de la toracoscopia; PV2: peso vivo 22 días después de PV1; RPM1: respiraciones por minuto medias prequirúrgicas; RPM2: durante la intervención; RPM3: posquirúrgicas; F1: fibrinógeno en el momento de la toracoscopia; F2: fibrinógeno 6 días después del segundo procedimiento. B= parámetros de la técnica: T: duración de la intervención (minutos); AE: aire extraído (ml); AV: alcance de visualización (valores: 1=EXCELENTE, 2=ÓPTIMO, 3=VÁLIDO, 4=INVÁLIDO). C= parámetros de seguridad: ID: índice de dolor (valores: 1=NADA, 2=LEVE, 3=MODERADO, 4=ALTO); PR: tiempo de recuperación (valores: 1=INMEDIATO, 2=RÁPIDO, 3=MEDIO, 4=TARDÍO); RL: riesgo de laceración o perforación pulmonar (valores: 1=BAJO, 2=MEDIO, 3=ALTO); RC: riesgo de colapso pulmonar pasivo (porcentaje de incremento de las RPM por encima del 50% del valor RPM1). Valores expresados como la media ± DE.

El área de visualización (AV) resultó ÓPTIMA (AV=2) cuando utilizamos el abordaje bajo; VÁLIDA (AV=3) con el abordaje medio e INVÁLIDA (AV=4) con el abordaje alto (tabla 20). Ninguno de los abordajes con este equipo 1 mostró un área de visualización EXCELENTE (AV=1).

**Tabla 20.** Valoración de los diferentes abordajes torácicos para la realización de toracoscopia en terneros de cebo afectados por SRB, usando un endoscopio rígido (equipamiento 1).

ABORDAJES	AV	ID	PR	RL
<b>Bajo (n=2)</b>	2±0	3±0	3±0	3±0
<b>Medio (n=5)</b>	3±0	3±0	1,5±0,9	2±0
<b>Alto (n=1)</b>	4±0	4±0	3±0	1±0

AV: alcance de visualización (valores: 1=EXCELENTE, 2=ÓPTIMO, 3=VÁLIDO, 4=INVÁLIDO); ID: índice de dolor (valores: 1=NADA, 2=LEVE, 3=MODERADO, 4=ALTO); PR: tiempo de recuperación (valores: 1=INMEDIATO, 2=RÁPIDO, 3=MEDIO, 4=TARDÍO); RL: riesgo de laceración o perforación pulmonar (valores: 1=BAJO, 2=MEDIO, 3=ALTO); Valores expresados como la media ± DE. Ninguna diferencia resultó estadísticamente significativa ( $P>0,05$ ).

La calidad de la imagen (CI), basándonos en la claridad de la imagen, la fuente de luz requerida, la capacidad de enfoque y el pixelado del zoom, resultó EXCELENTE con este tipo de equipo de endoscopio rígido (tabla 21).

**Tabla 21.** Parámetros relativos a la técnica y a la seguridad de la misma utilizando diferentes equipos de endoscopios rígido (equipo 1) o flexible (equipo 2) y videoscopios industriales de baja (equipo 3<sup>a</sup>) y alta calidad (equipo 3<sup>b</sup>), usados para realizar toracoscopias en terneros afectados por SRB.

	CI	ID	PR	RL
<b>Equipo 1 (n=8)</b>	1±0 <sup>a</sup>	3,1±0,33 <sup>a</sup>	2,2±0,97	2,1±0,60 <sup>a</sup>
<b>Equipo 2 (n=5)</b>	1±0 <sup>a</sup>	2,8±0,75 <sup>a</sup>	3±0,89	1,6±0,80 <sup>a,b</sup>
<b>Equipo 3a (n=9)</b>	3±0 <sup>b</sup>	2±0 <sup>b</sup>	1,9±0,83	1±0 <sup>b</sup>
<b>Equipo 3b (n=4)</b>	2±0 <sup>b</sup>	4±0 <sup>b</sup>	2±0	2,5±1,12 <sup>b</sup>

Abreviaturas: CI: calidad de la imagen (valores: 1=EXCELENTE, 2=MODERADO, 3=MALO); ID: índice de dolor (valores: 1=NADA, 2=LEVE, 3=MODERADO, 4=ALTO); PR: tiempo de recuperación (valores: 1=INMEDIATO, 2=RÁPIDO, 3=MEDIO, 4=TARDÍO); RL: riesgo de laceración o perforación pulmonar (valores: 1=BAJO, 2=MEDIO, 3=ALTO); Valores expresados como la media ± DE.

Valores expresados como medias ± DE. Los superíndices a y b muestran diferencias significativas con  $P<0,05$ .



*C. Resultados de los parámetros relativos a la seguridad de la técnica.  
Parámetros de seguridad*

El índice de dolor (ID) o los signos de malestar en los animales fueron MODERADOS (ID=3) en 5 de los 6 procedimientos, con un único caso donde el dolor fue ALTO (ID=4) al utilizar el abordaje alto (dorso-caudal, en el 5º espacio intercostal). Las toracoscopias realizadas en los abordajes medio o bajo produjeron un dolor MODERADO (ID=3), como puede observarse en la tabla 19.

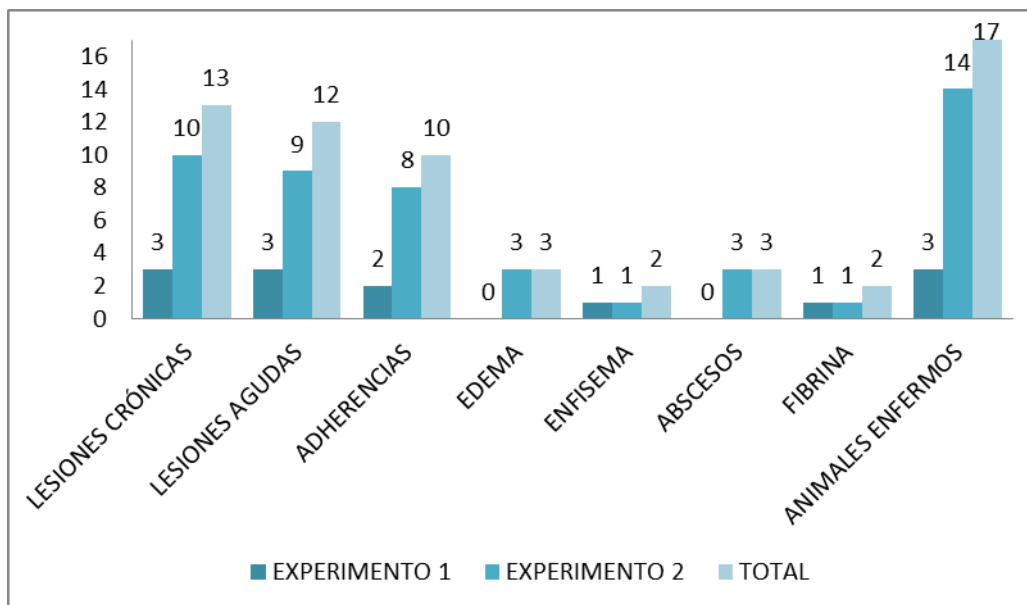
Tras el primer procedimiento, el periodo de recuperación (PR) fue menor a una hora en todos los casos (PR=3), y tras la segunda intervención, menor a 15 minutos para los tres animales (PR=1; tabla 18). No hubo diferencias en PR cuando se utilizaron los abordajes bajo o alto, pero el PR de estos dos abordajes resultó numéricamente diferente en comparación con el PR del abordaje MEDIO ( $3 \pm 0$  vs.  $1,5 \pm 0,87$ , respectivamente; tabla 19).

El riesgo de perforación o laceración pulmonar (RL) fue alto (RL=3) cuando se utilizó el abordaje bajo, mientras que obtuvimos valores de RL=2 durante la aproximación por abordaje medio, y RL=1 para el abordaje alto (tabla 20).

No hubo eventos adversos graves ni intra, ni postoperatorios. La única reacción adversa observada fue un caso con polipnea transitoria durante el procedimiento y otro con enfisema subcutáneo leve. No se observó en ningún caso riesgo de colapso pasivo de pulmón (RC) durante los procedimientos.

*D. Parámetros relativos al resultado diagnóstico de la exploración: lesiones observadas relacionadas con SRB*

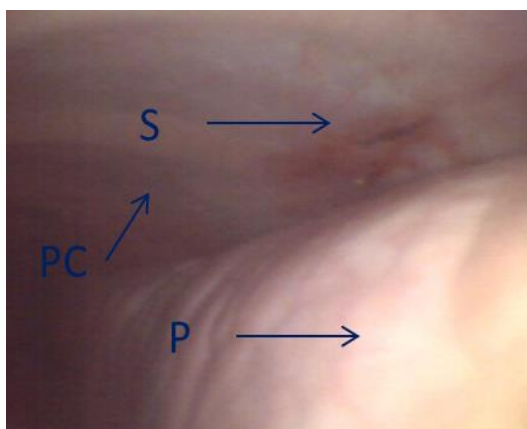
En cuanto a las lesiones relativas a SRB que pudieron observarse mediante la realización de la técnica de toracoscopia, se identificaron lesiones pulmonares agudas en los tres animales, adherencias en dos terneros, enfisema en otro y lesiones crónicas que se pudieron observar claramente en todos los terneros (figura 42).



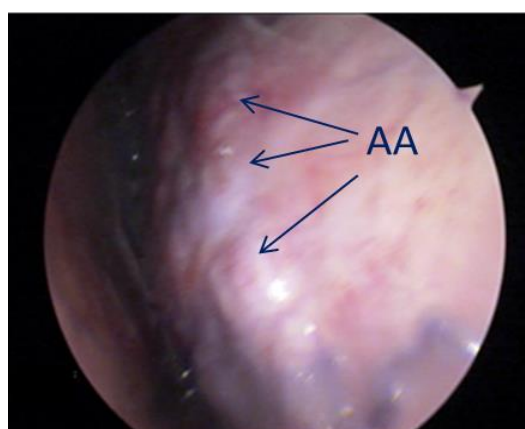
**Figura 42.** Lesiones de SRB observadas mediante toracoscopia usando diferentes endoscopios y/o videoscopios industriales en terneros de cebo con SRB. Valores expresados por número de animales enfermos.

No detectamos evidencia alguna de complicaciones o lesiones derivadas de la técnica al repetir la exploración 22 días más tarde en los mismos tres animales. Tan sólo se observó una pequeña zona hiperémica en un animal, a la altura de la incisión de la primera toracoscopia (figura 43) y pequeños restos de fibrina en la pared torácica en otro ternero.

En uno de los terneros se observaron abscesos compatibles con los producidos por *M. bovis* (figura 44 y vídeo 2), lo que se confirmó en la necropsia.



**Figura 43.** Imagen de las secuelas de la primera toracoscopia 22 días después. PC: pared Costal; P: pulmón; S: secuelas.



**Figura 44.** Imagen endoscópica de abscesos neumónicos en un ternero con SRB. AA: abscesos.

**Vídeo 2.** Abscesos pulmonares producidos por *M. bovis*, observados mediante toracoscopia en un ternero con SRB:

[www.veton-line.com/Tesis/Abscesos.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Abscesos.mp4)

### 5.2.2. Experimento 2

Basándonos en los resultados del experimento 1, y con el fin de asegurar el mayor nivel de seguridad, todas las toracoscopias del experimento 2, se realizaron utilizando abordajes altos (figura 41), exceptuando 2 animales (2/18), donde no fue posible por encontrarse caídos (tabla 22). Además, para garantizar el máximo bienestar animal, los animales se exploraron mediante ópticas flexibles, ya que permitían abordajes más seguros, una vez comprobado que el endoscopio rígido nos obligaba a aplicar más fuerza al intentar visualizar más campo, provocando mayor incomodidad de los animales y niveles de dolor mayores (tabla 20). Casi la totalidad de los procedimientos (17/18) se realizaron por el lado derecho de los animales. Igualmente, y basándose en la experiencia anterior, se consideró que la extracción del aire intratorácica era innecesaria.

**Tabla 22.** Valoración global de los diferentes abordajes empleados para realizar la toracoscopia en terneros de cebo afectados por SRB utilizando ópticas flexibles.

ABORDAJE	AV	ID	PR	RL
<b>Bajo (n=1)</b>	1	4 <sup>a</sup>	4	3
<b>Medio (n=1)</b>	1	3 <sup>a</sup>	3	2
<b>Alto (n=16)</b>	1±0 <sup>a</sup>	2,1±0,25 <sup>b</sup>	2,2±1,0	1,0±0

Valores expresados como medias  $\pm$  DE. Abordajes descritos en la figura 41. Los superíndices a y b con  $P < 0,001$ , respectivamente. Abreviaturas: AV: alcance de visualización (valores: 1=EXCELENTE, 2=ÓPTIMO, 3=VÁLIDO, 4=INVÁLIDO); ID: índice de dolor (valores: 1=NADA, 2=LEVE, 3=MODERADO, 4=ALTO); PR: tiempo de recuperación (valores: 1=INMEDIATO, 2=RÁPIDO, 3=MEDIO, 4=TARDÍO); RL: riesgo de laceración o perforación pulmonar (valores: 1=BAJO, 2=MEDIO, 3=ALTO).

#### A. Resultados de los parámetros dependientes del individuo. Parámetros del animal

Como se muestra en la tabla 18, la temperatura corporal media de los animales fue  $39,4 \pm 0,53^{\circ}\text{C}$ , con sólo dos terneros que presentaron fiebre, pero ya antes de los toracoscopias, debido al proceso neumónico que sufrían. El peso corporal en el momento de la intervención fue de  $157,8 \pm 79,74$  kg; además, las RPM fueron moderadas en todas las intervenciones antes, durante y después de las toracoscopias.

#### B. Resultados de los parámetros relativos a la técnica. Parámetros de la técnica

Todas las intervenciones duraron entre 10 y 25 min ( $14,8 \pm 3,84$  min). La puntuación de AV fue excelente (AV=1) en el 100% de las cirugías, con una gran diferencia en la descripción de la calidad de la imagen (CI) entre los equipos (tabla 21), resultando los endoscopios mucho más apropiados.

*C. Resultados de los parámetros relativos a la seguridad de la técnica.  
Parámetros de seguridad*

La puntuación del dolor fue LEVE (ID=2) en 15 de 18 intervenciones, con una media general de  $ID=2,22 \pm 0,53$ ; ID fue cuatro en un solo caso y de tres en otras dos intervenciones (tabla 19). Además, el índice de dolor dependió del abordaje, demostrándose el abordaje Alto como el menos doloroso para los terneros (tabla 22).

El periodo de recuperación de los animales (PR) fue RÁPIDO ( $2,39 \pm 1,01$ ) en 12 de los 18 procedimientos; es decir, menor de 30 minutos (PR=2). El 40% de los terneros (6/18) mostraron una recuperación INMEDIATA (PR=1), seis de los terneros se recuperaron por completo entre 30 minutos y una hora (PR=3) y dos animales mostraron una recuperación tardía (PR=4), entre la hora y las primeras 24 horas. Aunque numéricamente los abordajes bajo y medio dieron lugar a valores de tiempo de recuperación mayor que los del abordaje alto, las diferencias no resultaron estadísticamente significativas (tabla 22).

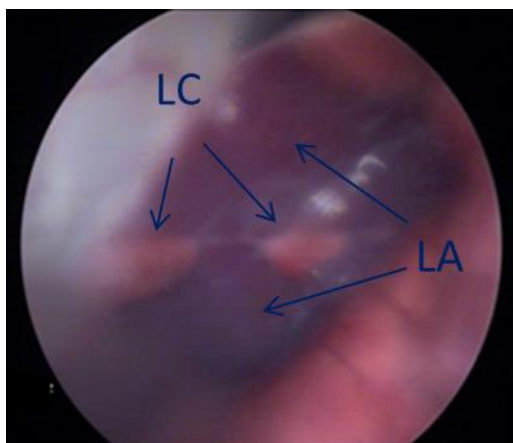
El riesgo de perforación o laceración pulmonar (RL) fue de  $1,17 \pm 0,5$  (tabla 18), siendo BAJA en 16 de 18 intervenciones (89%). Sólo en un caso fue MEDIA (RL=2), y en un único animal se produjo laceración, debido a que el ternero permaneció tumbado durante la toracoscopia, por a una fractura de fémur. La posición reclinada del animal impedía una introducción apropiada del trócar y por tanto una buena visualización, por lo que el procedimiento se interrumpió. Este ternero fue eutanasiado al día siguiente de la toracoscopia y otro ternero más, también se eutanasió siete días después debido a razones humanitarias, una vez hubimos confirmado el mal pronóstico de la enfermedad respiratoria mediante toracoscopia además de confirmarse la infección persistente por DVB.. De manera semejante al PR, aunque numéricamente los abordajes bajo y medio dieron lugar a valores de riesgo de laceración pulmonar mayores que los del abordaje alto, la diferencia no resultó estadísticamente significativa (tabla 22).

No hubo riesgo alguno de colapso pulmonar en ninguno de los animales, como se observó con anterioridad en el experimento 1, presentando éstos únicamente polipnea transitoria leve.

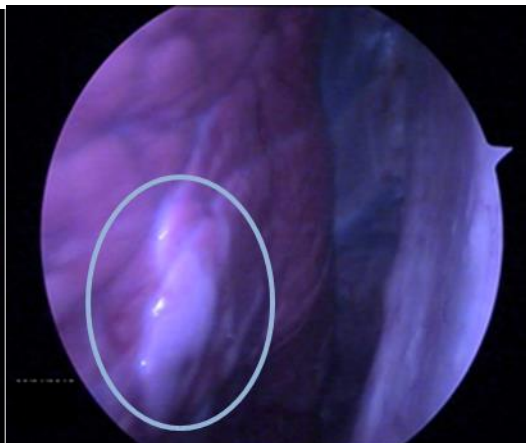
*D. Parámetros relativos al resultado diagnóstico de la exploración: lesiones observadas relacionadas con SRB*

No se observaron lesiones neumónicas en los terneros control. El resto de los animales fue confirmado como enfermo de SRB durante la exploración (14 animales), observándose diferentes lesiones pulmonares en todos ellos, como se muestra en la figura 42.

Se observaron lesiones pulmonares crónicas en el 71,43% de los terneros afectados (10/14); el 64,29% mostró lesiones pulmonares agudas (9/14), y el 50,0% presentó ambos tipos de lesiones (7/14); además, el 57,14% mostró adherencias (8/14) y un 28,57% mostró lesiones agudas crónicas y adherencias (4/14). No fue posible la exploración completa de un animal debido a la presencia de una adherencia completa del pulmón a la pleura parietal. Por otro lado, tres animales presentaron abscesos neumónicos (figura 44) con un patrón compatible con infección por *Mycoplasma bovis* (21,43%) y dos de ellos presentaron lesiones agudas (figura 45) y crónicas (figura 46) de forma simultánea.

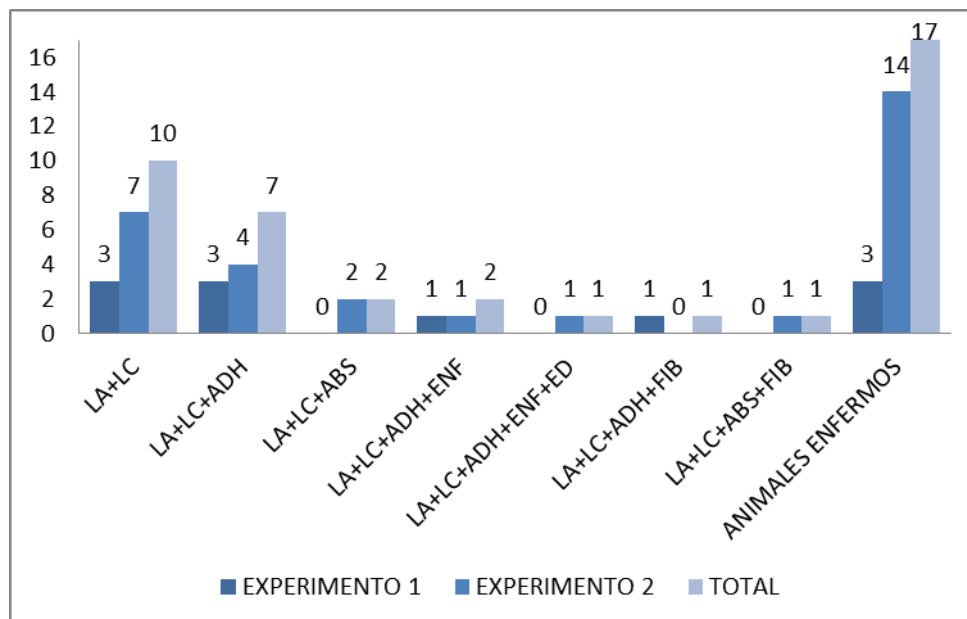


**Figura 45.** Imagen endoscópica de un pulmón de ternero con lesiones agudas (LA) y crónicas (LC).

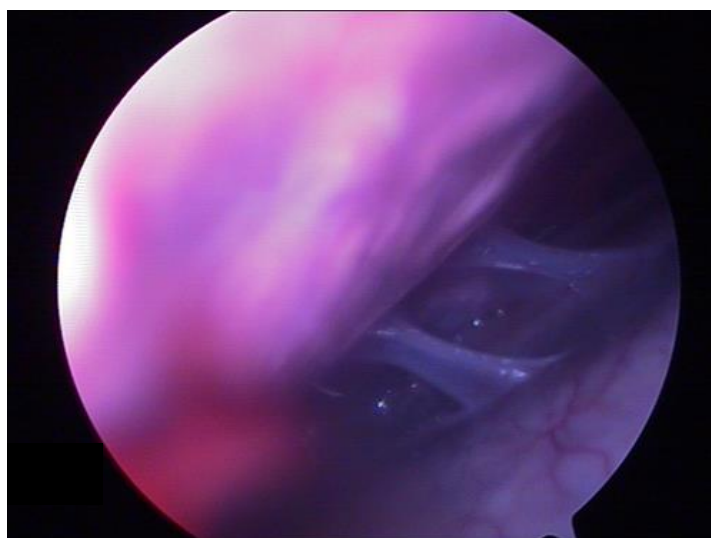


**Figura 46.** Imagen endoscópica de un pulmón de ternero con lesiones crónicas.

Sólo un animal (figura 47) mostró todas estas lesiones y además adherencias (figura 48 y vídeo 3). Se observó edema en tres animales y en uno enfisema. Ocasionalmente se detectaron depósitos de fibrina.



**Figura 47.** Combinaciones de diferentes lesiones de SRB observadas mediante toracoscopia usando diferentes endoscopios y/o videoscopios industriales en terneros con SRB. LA: lesión aguda; LC: lesión crónica; ADH: adherencias; ABS: abscesos; ENF: enfisema; ED: edema; FIB: fibrina. Valores expresados por número de animales enfermos.



**Figura 48.** Imagen endoscópica de adherencias pulmonares observadas *in vivo* en un ternero de cebo afectado de SRB. Exploración efectuada con endoscopio flexible mediante abordaje alto, con el ternero en estación.

**Vídeo 3.** Adherencias pulmonares observadas mediante toracoscopia en un ternero con SRB: [www.veton-line.com/Tesis/Adherencias.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Adherencias.mp4)

### **5.2.3. Comparación entre los equipos de sonda rígida y flexible (equipamiento 1 vs. equipamiento 2)**

El equipamiento 1 (óptica rígida) no permitió la observación de los lóbulos craneales (AV=4) cuando se introdujo a través del abordaje alto. Además, el malestar del animal se consideró ALTO (ID=4) debido a que había que forzar mucho la introducción de la óptica para intentar visualizar el tejido pulmonar. La realización de la técnica mediante un abordaje inferior con este equipo sí permitió la visualización completa de los lóbulos craneales (AV=3), pero no la exploración completa del lóbulo caudal. El ID fue de 3 (MODERADO) con la excepción de un ternero que permaneció tumbado, donde el ID fue de 4 (ALTO).

Cuando se usaba el abordaje medio con el equipo 1, éste permitía una visualización peor de los lóbulos craneales (considerado como el AV=2) que el abordaje más bajo, pero permitía visualizar una pequeña parte del lóbulo caudal, aunque valorado con un ID=3.

La óptica rígida (6/24) resultó obviamente más incómoda para los terneros que las flexibles ( $ID=2,9 \pm 0,6$  vs.  $1 \pm 0$ , respectivamente).

Al contrario que las ópticas rígidas, las de tipo flexible (equipamientos 2 y 3), permiten la introducción segura del endoscopio entre los lóbulos craneales con muy buena visualización de éstos (AV=1; que es excelente), haciendo posible no sólo una visualización periférica y cercana del tejido pulmonar, sino también la posibilidad de revisar todo el pulmón y todas las estructuras con la introducción de la óptica dentro de la cavidad torácica desde el abordaje más alto y seguro. El uso de los tipos de equipamiento 2 y 3 mediante el abordaje alto, evidenció un ID de 2 (el valor más bajo obtenido) que se observó en la mayoría de los animales (15/16), con sólo un caso con ID=3.

Por último, el equipamiento 1 obtuvo una CI EXCELENTE (CI=1, tabla 19) con una luz adecuada y suficientes píxeles en comparación con los otros dos tipos de equipos 3a y 3b (videoscopios industriales de alta y de baja calidad) que mostraron valores de CI MALOS y MODERADOS, respectivamente), pero similar a los valores CI EXCELENTES obtenidos al utilizar el equipamiento 2 (endoscopios flexibles), como se muestra en la tabla 20.

### 5.3. DISCUSIÓN

Con este estudio hemos demostrado por primera vez la utilidad de la toracoscopia como técnica de diagnóstico fácil, segura y rápida para el diagnóstico de SRB en terneros, en condiciones de campo, con claras ventajas en comparación con otros métodos exploratorios. Hemos evaluado el uso de diferentes tipos de equipamiento y, en base a estos resultados, el uso de endoscopios flexibles (equipamiento 2) a través de un abordaje alto (dorso-caudal en el quinto espacio intercostal en dirección caudo-craneal u octavo cráneo-caudalmente; figura 41) con el animal de pie, resulta la combinación apropiada en términos de bienestar animal y resultados de eficacia diagnóstica. Esta técnica permite la exploración completa de los pulmones en unos 15 minutos, y posibilita la diferenciación de las lesiones pulmonares crónicas y agudas, así como la observación de adherencias en terneros vivos con SRB, sin poner en peligro el bienestar animal ni la salud de los terneros.

La toracoscopia se viene utilizando en caballos, desde hace décadas, con estudios que describen el uso exitoso de las endoscopias rígidas y flexibles (Mackey y Wheat, 1985). Recientemente se han realizado estudios con endoscopios rígidos con vacas sanas (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014), pero, en nuestro conocimiento, éste es el primer trabajo que ha estudiado el uso de la toracoscopia en animales enfermos de especie bovina, comparando diferentes tipos de equipos (rígidos frente a flexibles), el análisis de diferentes áreas de aproximación y parámetros de calidad, en relación con el bienestar animal, la seguridad y la eficiencia diagnóstica en condiciones experimentales y de campo.

Como se observa en el presente estudio, tan sólo se requiere de una preparación sencilla del paciente, incluyendo una adecuada inmovilización y un protocolo de premedicación y anestésico para realizar la toracoscopia en terneros, incluso bajo condiciones de campo.

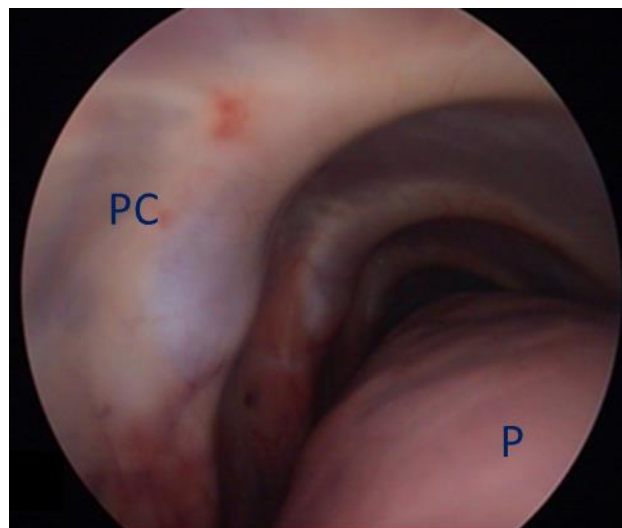
Todas las intervenciones se desarrollaron en menos de 23 minutos, tiempo muy similar a los 20 ó 30 minutos empleados en estudios anteriores con vacas sanas (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014); y con una media de tiempo de unos 15 minutos como se describe en los estudios realizados con caballos por Peroni (Peroni *et al.*, en 2001). Sin embargo, los autores piensan que es posible llevar a cabo este tipo de intervención con mayor rapidez, una vez la técnica se haya descrito minuciosamente y no se necesite ningún registro de datos adicional, pudiendo aproximarse a los 9 minutos descritos por Buczinski para una exploración ecográfica completa (Buczinski *et al.*, 2011). Si bien es cierto que en nuestro estudio sólo exploramos el hemitórax derecho; sin embargo, éste se puede considerar representativo de la lesión pulmonar general y el lóbulo más interesante de explorar, dado que las lesiones de SRB se desarrollan típicamente en los lóbulos pulmonares craneoventrales y con distribución bilateral (Andrews y Kennedy, 1997), y que la exploración del lóbulo craneal derecho, que suele ser el primero en afectarse (Epperson, 2003), aporta la información necesaria para conocer el grado de afectación del pulmón y del animal sin necesidad de realizar dos entradas quirúrgicas.



Los resultados nos llevan a concluir que el endoscopio flexible muestra evidentes ventajas en comparación con el rígido (tablas 20-22), sin perder calidad de imagen; como ya se ha demostrado en medicina humana (Ibrahim *et al.*, 2015; Lichty Ladegaard, 2010).

También queda claro que la calidad de imagen de los videoscopios industriales no resulta óptima si se compara con los endoscopios. Sin embargo, existe una clara ventaja de precio, y las imágenes obtenidas en tiempo real tienen la suficiente calidad como para diagnosticar correctamente la enfermedad. Sin embargo, la calidad de la imagen no es válida como para ser registrada y reproducida posteriormente, lo que limita su aplicación a la docencia o la investigación. No se han descrito experiencias previas con videoscopios de tipo industrial para estas aplicaciones. Adicionalmente a la baja calidad de imagen de los videoscopios, otra desventaja es la imposibilidad de tomar biopsias de tejido pulmonar o líquido libre, así como de retirar adherencias.

Con el equipamiento 2 (endoscopios con óptica flexible), el abordaje alto resultó ser el más fácil además del más seguro, mostrando la más alto alcance de visualización, haciendo posible la observación de toda la cavidad torácica (figura 49; tablas 21 y 22).



**Figura 49.** Imagen de la parte caudal de la cavidad torácica de un ternero mediante toracoscopia. *P: pulmón; PC: pared costal.*

Mediante esta técnica hemos sido capaces de visualizar el pericardio (figura 50), en contra de los resultados obtenidos en vacas adultas por Scharner (Scharner *et al.*, 2014). La diferencia puede deberse, precisamente, a que estos autores no usaron un equipo flexible, pudiendo suponerse que esta visualización también debe ser posible en vacas. De hecho, Michaux logró visualizar estas estructuras utilizando un endoscopio rígido en bovinos adultos (Michaux *et al.*, 2014).



**Figura 50.** Imagen del pericardio de un ternero mediante toracoscopia con broncoscopio flexible.

Hasta la fecha no hemos encontrado información documentada previa en relación a la evaluación del dolor o malestar durante estos procedimientos para los diferentes abordajes y equipos en el bovino.

En nuestro estudio, los dos terneros que mostraron mayor ID fueron sometidos a abordajes bajos y medios y achacamos este dolor a la presión producida al utilizar la óptica rígida, al buscar la visualización de áreas distantes. Sin embargo, incluso en estos animales, no se observó ninguna complicación derivada de la toracoscopia, ni en la primera ni en la segunda observación, 22 días después.

En general, la incidencia de eventos adversos durante el procedimiento y de complicaciones médicas después del procedimiento fue muy baja. Los eventos adversos más comunes asociados a la toracoscopia en otras especies incluyen hemorragia y trauma en estructuras adyacentes o estructuras fuera de la zona de visualización dentro de la cavidad torácica (Radlinsky, 2009) y enfisema subcutáneo leve asociado al área quirúrgica, así como neumotórax subclínico (Peroni *et al.*, 2001). En nuestro caso, el riesgo de laceración se consideró bajo en el abordaje seleccionado (ALTO) y la única complicación posoperatoria observada fue enfisema subcutáneo leve y transitorio en un único caso.

La experiencia en que la posición reclinada del animal no permitía la visualización adecuada de la zona, nos sugiere que la toracoscopia debe realizarse, si es posible, en los animales en estación, tal y como se describe para el caballo (Peroni *et al.*, 2000; Vachon, y Fischer, 1998).

No se apreció riesgo de colapso pulmonar en ninguno de los terneros; en el experimento 1 se extrajo el aire introducido de forma pasiva, pero en los siguientes 18 procedimientos no resultó necesario, incluso cuando se utilizó un trócar sin válvula de cierre de aire. En contraste con el estudio de Michaux (Michaux *et al.*, 2014), nosotros no consideramos necesaria la introducción de CO<sub>2</sub> para obtener una perfecta

visualización. Durante nuestras intervenciones tampoco fue necesaria una fuente externa de oxígeno intranasal, en contraste con el caso de la pericardiotomía que se describe en una vaca con un linfoma, en el trabajo de Van Biervliet (Van Biervliet *et al.*, 2006).

En ningún caso consideramos necesario tratar a los terneros de manera sistemática con antibiótico postoperatorio, debido al bajo riesgo de infección incluso bajo condiciones de campo. De hecho, no se observaron complicaciones infecciosas en los 28 días después de los toracoscopias, lo que demuestra la idoneidad de esta decisión.

La mortalidad en nuestro estudio durante el primer mes después del examen fue del 0%, a excepción de los dos animales eutanasiados por razones humanitarias (2/19) previamente comentados (ambos terneros con lesiones pulmonares muy graves y procesos concomitantes de gravedad de enfermedad persistente de DVB y fractura de fémur, respectivamente). Sin embargo, aun estos animales no mostraron problemas durante el procedimiento. La tasa de mortalidad y las complicaciones inmediatamente después de la toracoscopia en animales enfermos ha sido descrita con anterioridad en pequeños animales mostrando un bajo índice de complicaciones, de manera similar a nuestra experiencia (Radlinsky, 2009).

Seleccionamos explorar los animales desde el lado derecho basándonos en la información disponible en base a necropsia (Epperson, 2003), donde se observó que la observación únicamente de la parte torácica izquierda no parecía dar información suficiente en los animales afectados ligeramente por SRB.

Por otra parte, la selección del abordaje en los terneros debe poder permitir el acceso a la cavidad para realizar el diagnóstico primario de enfermedad pulmonar, biopsia diagnóstica, pleural y/o drenaje de derrames pericárdicos, resección de masas intratorácicas y abscesos, o drenaje de pitorax, entre otros (Monnet, 2009; Peroni *et al.*, 2001; Vachony Fischer, 1998). Las áreas pulmonares de mayor interés en el ganado se corresponden con los lóbulos craneales del pulmón, como las áreas afectadas en primer lugar y en mayor medida por el SRB (Epperson 2003; Rezac *et al.*, 2014). De hecho, se pudieron detectar lesiones en el 87% de los terneros explorados; de ellas, las observadas con mayor frecuencia fueron consolidación pulmonar, depósitos de fibrina, adherencias, zonas enfisematosos, abscesos y líquido libre, de acuerdo a la descripción patológica del SRB en necropsia en el ganado vacuno (Panciera y Confer, 2010).

Además, en el experimento 1, estas lesiones claramente observadas por endoscopia no pudieron ser diagnosticadas por completo a través de otras técnicas de diagnóstico por imágenes (radiología y ecografía), destacando la ventaja de la toracoscopia como herramienta diagnóstica complementaria en procesos neumónicos en terneros. Se han encontrado resultados similares en otras especies (Haasler, 1995), estando indicada la toracoscopia para la visualización directa del pulmón en comparación con la toracotomía (Ginsberg, 1993; McCarthy, 1999).

#### **5.4. CONCLUSIONES**

Con este estudio hemos demostrado por primera vez la utilidad de la toracoscopia como técnica diagnóstica sencilla, segura y rápida que puede ser aplicada en terneros enfermos de SRB en condiciones de campo, con claras ventajas en comparación con otros métodos exploratorios. Estos resultados indican que los endoscopios flexibles utilizados mediante un abordaje alto (figura 41) con el animal de pie, permiten la exploración completa de los pulmones y la cavidad torácica en menos de 30 minutos, y hacen posible la diferenciación de las lesiones pulmonares crónicas y agudas, así como las adherencias en terneros enfermos de SRB, sin comprometer ni el bienestar animal ni la salud de los terneros. Estos resultados indican que la toracoscopia es una eficaz herramienta de aplicación diagnóstica y pronóstica para animales enfermos en condiciones de campo.



## **CAPÍTULO 3**



## 6. CAPÍTULO 3

### **Aplicación práctica de la toracoscopia pulmonar en el ternero de cebo: biopsia pulmonar y estudio de la pleura visceral bovina**

Tal y como comentamos inicialmente, en el ganado vacuno, la única técnica de biopsia pulmonar desarrollada es la biopsia percutánea, además de una única descripción de biopsia pulmonar transbronquial mediante broncoscopia en condiciones experimentales (Prohl *et al.*, 2014). Sin embargo, es claro el interés diagnóstico de la biopsia pulmonar percutánea en el bovino, así como la seguridad de su realización (Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Sydler *et al.*, 2004, Brandy 2011, 2013). A pesar de todo, la utilidad diagnóstica específica para el SRB no pudo ser ratificada (Brandy, 2013).

Como ya hemos demostrado en nuestro trabajo experimental anterior, descrito en el capítulo 2, la toracoscopia es una herramienta diagnóstica segura y de fácil utilización en los terneros de cebo, incluso en condiciones de campo. Por otro lado, es obvio que una de las principales ventajas y grandes potenciales de la toracoscopia es la posibilidad de la toma de muestras de tejidos *in vivo*; es decir, la realización de biopsias (Janssen, 2010), que incluyen, por supuesto, la biopsia de pulmón vía toracoscópica (BT), tal y como se describe en otras especies (Lugo y Peroni, 2004; Relave *et al.*, 2008, 2010; Barakzai *et al.*, 2014). Sin embargo, no existe información concreta disponible al respecto de la técnica y aplicabilidad de la BT en el bovino.

Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue determinar la viabilidad diagnóstica de las muestras obtenidas mediante BT realizada con el equipo de toracoscopia previamente determinado en el capítulo 2 (con canal de trabajo <5mm), tanto en animales sacrificados (experimento 1), como en animales vivos (experimento 2), así como la determinación de los posibles factores que pudieran influir en la calidad diagnóstica de la muestra de biopsia, como las características de la pleura visceral pulmonar, la edad el ternero, el sexo, el peso o la raza, sobre la calidad de la muestra obtenida (objetivos específicos 5 y 6).



## **6.1. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1.1. Animales y procedimiento**

#### **6.1.1.1. Experimento 1**

Se tomaron un total de 80 biopsias a partir de pulmones obtenidos *postmortem*, provenientes de 40 bovinos recién sacrificados, según la normativa vigente en el RD 147/1993 del 29 de enero, en el matadero comarcal de Colmenar Viejo (Madrid, España).

Los animales eran 27 hembras y 13 machos en su mayoría de razas cruzadas y provenían de un total de 12 explotaciones comerciales de la Comunidad de Madrid (España), con edades comprendidas entre uno y 19 años, y 197 y 434 kg de peso a la canal.

Se tomaron dos muestras por animal en los 20 minutos posteriores a su sacrificio: una de lóbulo craneal derecho y otra del lóbulo caudal derecho, mediante la pinza del broncoscopio.

#### **6.1.1.2. Experimento 2**

Se tomaron un total de 15 biopsias a partir de cuatro terneros macho vivos y diagnosticados como enfermos de SRB, de razas de aptitud cárnica, en dos cebaderos comerciales de la Comunidad de Madrid, con pesos de entre 70 y 160 kg de peso vivo, y entre tres y ocho meses de edad.

Los animales se consideraron enfermos crónicos de SRB según los siguientes criterios:  $\geq 40^{\circ}\text{C}$  de temperatura rectal, dos o más signos clínicos de SRB (tos, secreción nasal purulenta, disnea, polipnea, etc.), dos o más tratamientos antibióticos sin curación y un notable retraso en el crecimiento o bien una importante pérdida de peso (Pardon *et al.*, 2013).

El procedimiento quirúrgico se llevó a cabo en base a los resultados obtenidos en el capítulo anterior, considerando la idoneidad de efectuar un abordaje alto, entre el cuarto y el sexto espacio intercostal, mediante broncoscopio flexible. Los animales se inmovilizaron con una cabezada dentro de una manga de manejo convencional, y se les aplicaron 5ml de anestésico local en el área de incisión con lidocaína al 2% y adrenalina al 2‰ (Xilocaína® Laboratorios Ovejero SA, León, España), por vía subcutánea, al menos una hora después de ser premedicados con meloxicam (Metacam®, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Ingelheim/Rhein, Alemania), a una dosis de 0,5mg/kg por vía intravenosa.

Se tomaron entre tres y cuatro biopsias por animal, con un total de ocho muestras provenientes de los lóbulos craneales y siete de los caudales. Todos los animales se muestrearon en el pulmón derecho, dado que es el primero en afectarse (Epperson, 2003), y que cabe esperar que la enfermedad tenga una presentación bilateral

(Andrews y Kennedy, 1997). Adicionalmente, porque es el lado de abordaje elegido en base a las evidencias de idoneidad y utilidad descritas en el capítulo 2.

### 6.1.2. Conservación y manejo de las muestras

Las muestras se fijaron en formalina al 10% inmediatamente después a su recogida y se conservaron en tubos eppendorf (figuras 51y 52), hasta su llegada al laboratorio (Micros Veterinaria S.L., León, España), donde se analizaron histopatológicamente.



**Figuras 51 y 52.** Muestras de biopsia de pulmón obtenida mediante pinza de toracoscopio en terneros *postmortem* (experimento 1, imagen izquierda) y en terneros *in vivo* (experimento 2, imagen derecha).

Una vez en el laboratorio, las muestras se traspasaron para su fijación definitiva a formalina tamponada del 10 al 4%. Debido al pequeño tamaño de las muestras, éstas se incluyeron completamente, con cuidado de colocarlas de forma perpendicular a la superficie pleural, en lo posible.

En el laboratorio de histopatología, las muestras se procesaron para su estudio histológico convencional, mediante deshidratación con alcoholes, xilol e inclusión en parafina. Se realizaron cortes de 3 micras de grosor, los cuales se tiñeron mediante hematoxilina-eosina. En el caso de las muestras de animales con lesión, se realizó una tinción de Gram para determinar la eventual presencia de bacterias en las muestras.

Para la valoración de la superficie total de parénquima pulmonar, así como de la pleura y tabiques interlobulillares de cada muestra del experimento 1, se empleó un microscopio Leica DM1000, con cámara fotográfica Leica ICC50HD integrada, y el programa analizador de imágenes “Image J” para realizar las medidas.

### 6.1.3. Equipamiento

En ambos experimentos se utilizó el mismo equipamiento para la toma de biopsias; en concreto, la pinza de biopsia Braun de apertura de hasta 8 mm, accesoria al vídeo endoscopio veterinario Braun AV3003S, de 920 mm, y canal de trabajo de 5,98 mm.

#### 6.1.4. Recogida y procesado de datos

##### *Recogida de datos*

Se recogieron datos de posibles **factores de riesgo** dependientes del animal que fueron sexo, edad, raza y peso (con el dato de peso de la canal para el experimento 1 y peso vivo para el experimento 2), junto con la información del lóbulo pulmonar (craneal o caudal) donde se realizaba la biopsia en ambos experimentos para valorar posibles interferencias del tamaño pleural, de la cantidad de parénquima obtenidos (experimento 1) o de la ausencia o presencia de parénquima (experimento 2), y posteriormente determinar la localización ideal de toma de biopsia pulmonar.

También se anotó en ambos experimentos la información relativa a los **posibles indicadores macroscópicos de validez de la muestra**:

- Estimación del tamaño macroscópico de la biopsia en dos rangos:  $\leq$  ó  $>2$  mm de longitud en cada muestra, antes de su inmersión en formol.
- Estimación macroscópica de la presencia o ausencia de parénquima pulmonar mediante la observación de punteado de color rosado en la muestra (asociado empíricamente a parénquima pulmonar): presencia, ausencia o resultado dudoso.
- Otras observaciones excepcionales: como sangre, punteado negro, etc.

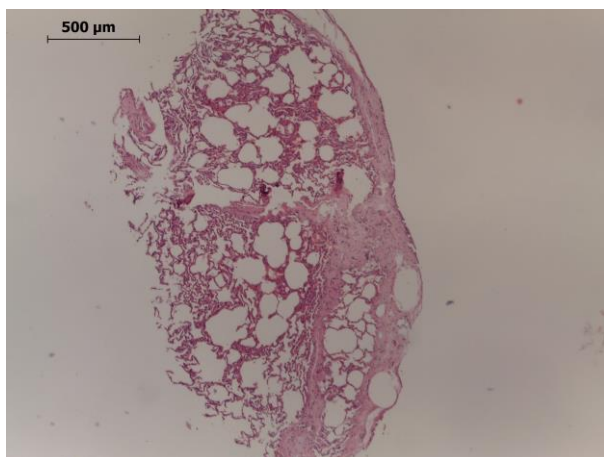
##### *Procesado de datos*

Los resultados aportados sobre presencia, ancho y superficie de pleura visceral, presencia y superficie de parénquima pulmonar y hallazgos histopatológicos de las muestras de biopsia, se analizaron por el laboratorio de histopatología MICROS VETERINARIA S.L. obteniéndose datos continuos de medición de tejido en micrones o micrones cuadrados, según fueran distancias lineales o superficie. Las diferencias resultados se analizaron estadísticamente, utilizando el paquete estadístico SPSS® vs 22.0 (IBEM, NY, EE.UU), comparándose las medias y SD de las variables continuas mediante ANOVA, y los porcentajes en el caso de variables discretas mediante la prueba del Chi cuadrado y los residuales estandarizados. Los valores  $P$  de  $<0,05$  se consideraron significativos, mientras que valores de entre 0,05 y 0,1 se consideraron indicadores de tendencia. Además, se analizó la capacidad predictiva de la estimación macroscópica de la presencia o ausencia de tejido pulmonar en la biopsia, comparándola con la existencia real de tejido parenquimatoso al microscopio (valor kappa).

## 6.2. RESULTADOS

### 6.2.1. Experimento 1

De las 80 muestras obtenidas, tan sólo 68 se consideraron como fiables en la medición de la pleura, aunque todas ellas fueron válidas a la hora de valorar la presencia o ausencia de parénquima. Setenta y tres muestras de las 80 totales (91,25%) tenían tejido parenquimatoso, por lo que se consideraron útiles para el diagnóstico de enfermedad pulmonar (figura 53).



**Figura 53.** Imagen de una muestra de pulmón válida para su estudio histopatológico, obtenida de terneros *postmortem* (experimento 1). Imagen cedida por Jorge González Fernández (MICROS SL).

Se obtuvieron muestras con mayor superficie de parénquima pulmonar cuando éstas provenían de los lóbulos craneales ( $P=0,031$ ) en relación a los caudales, con un 11,63% más de tejido pulmonar en los primeros (tabla 23). Además se obtuvo más tejido pulmonar en animales de peso menor a 250 kg respecto de los de mayor peso ( $1803,67 \pm 1069,80$  vs.  $1255,31 \pm 886,72$ ;  $P=0,038$ ).

**Tabla 23.** Resultados de las características del parénquima contenido en las muestras de biopsia pulmonar tomadas mediante pinza de toracoscopio en ganado bovino *posmortem* (experimento 1).

Muestras con P	P-CR (micras/1000)	P-C (micras/1000)	SUPERFICIE P (micras/1000)	SUPERFICIE P-CR (micras/1000)	SUPERFICIE P-C (micras/1000)	SUPERFICIE P-CR>P-C
91,25% (n=73)	40±0,50	33±0,41	1467,9±977,02	1661,1±974,27	1246,3 ±932,11	11,63%

*P: parénquima; P-CR: parénquima de los lóbulos craneales derechos; P-C: parénquima de los lóbulos caudales derechos, CR: lóbulo craneal derecho; C: lóbulo caudal derecho.*

En cuanto a las características observadas de la pleura visceral, se encontró una tendencia a un mayor grosor de la pleura en los lóbulos caudales respecto a los craneales ( $P=0,11$ ) mostrando los lóbulos caudales una pleura visceral un 14,35% más gruesa que la de los lóbulos craneales (tabla 24). Este hecho se acompañaba de una mayor proporción de muestras de pulmón con tamaños >2mm en los lóbulos craneales (77,4%) en comparación con los caudales (56,8%;  $P=0,061$ ) y en un porcentaje mayor de muestras viables para diagnóstico en los lóbulos craneales (54,8 vs. 27,8%;  $P=0,022$ ).

**Tabla 24.** Resultados de las características de la pleura contenida en las muestras de biopsia pulmonar tomadas mediante pinza de toracoscopio en ganado bovino *posmortem*, distribuidas según el lóbulo pulmonar de procedencia de la muestra (experimento 1).

ANCHO DE PL (micras) <i>P</i> =0,112	ANCHO PL-CR (micras)	ANCHO PL-C (micras)	SUPERFICIE PL (micras/ 1000) <i>P</i> =0,953	SUPERFICIE PL-CR (micras/ 1000)	SUPERFICIE PL-C (micras/ 1000)	TAMAÑO PLEURA CR>C
179,3 ±63,60	166,2 ±45,48	194,1 ±77,52	590,0 ±476,74	593,9 ±509,01	586,3 ±452,43	14,35%

*PL: pleura; PL-CR: pleura de los lóbulos craneales; PL-C: pleura de los lóbulos caudales.*

El sexo no influyó en el grosor ni en la superficie de la pleura visceral contenida en las muestras de biopsia, aunque los machos mostraron un grosor pleural numéricamente mayor que las hembras (*P*=0,139). Ni la raza, ni el peso, ni la edad de los terneros influyeron en los resultados de grosor o de superficie pleural de las muestras, aunque, de nuevo, podríamos hablar de tendencia a una mayor superficie de pleura en las muestras de biopsia en los animales de más peso (*P*=0,113; tabla 25).

**Tabla 25.** Datos de grosor y superficie de la pleura visceral en la toma de muestras de biopsia pulmonar mediante pinza de toracosopia en terneros de cebo *posmortem*, distribuidos en función de las diferentes características de los animales que podrían afectar al grosor de la pleura (experimento 1).

Distribución de animales por SEXO (M/H)	ANCHO PL (micras) (P=0,14)	SUPERFICIE PL (micras/1000) (P=0,47)	EDAD MEDIA (meses)	Distribución de animales por EDAD (<14m; ≥14m)	ANCHO PL (micras) (P=0,629)	SUPERFICIE PL (micras/1000) (P=0,113)	PESO CANAL MEDIO (kg)	Distribución de animales por PESO CANAL (<250 kg; ≥250 kg)	ANCHO PL (micras) (P=0,212)	SUPERFICIE PL (micras/1000) (P=0,983)	Distribución de animales por RAZA (cr o n-cr)	ANCHO PL (micras) (P=0,577)	SUPERFICIE PL (micras/1000) (P=0,614)
<b>H</b> 67,50% (27/40)	169,6± 64,95 <sup>a</sup>	556,4± 446,6	48±65	<b>&lt;14m</b> 47,50% (19/40)	175,3± 61,77	488,0± 387,13	282±60	<b>&lt;250 kg</b> 35% (14/40)	162,6± 60,47	587,9± 488,03	<b>cr</b> 87,5% (35/40)	193,2± 50,51	496,1± 219,89
<b>M</b> 32,5% (13/40)	197,0± 58,77	652,2± 534,5		<b>≥14m</b> 52,50% (21/40)	183,9± 66,56	688,5± 538,12		<b>≥250 kg</b> 65% (26/40)	186,6± 64,35	590,9± 478,16	<b>n-cr</b> 12,5% (5/40)	177,6± 65,32	601,1± 498,53

PL: pleura; M: macho; H: hembra; m: meses, cr: raza cruzada; n-cr: raza pura).

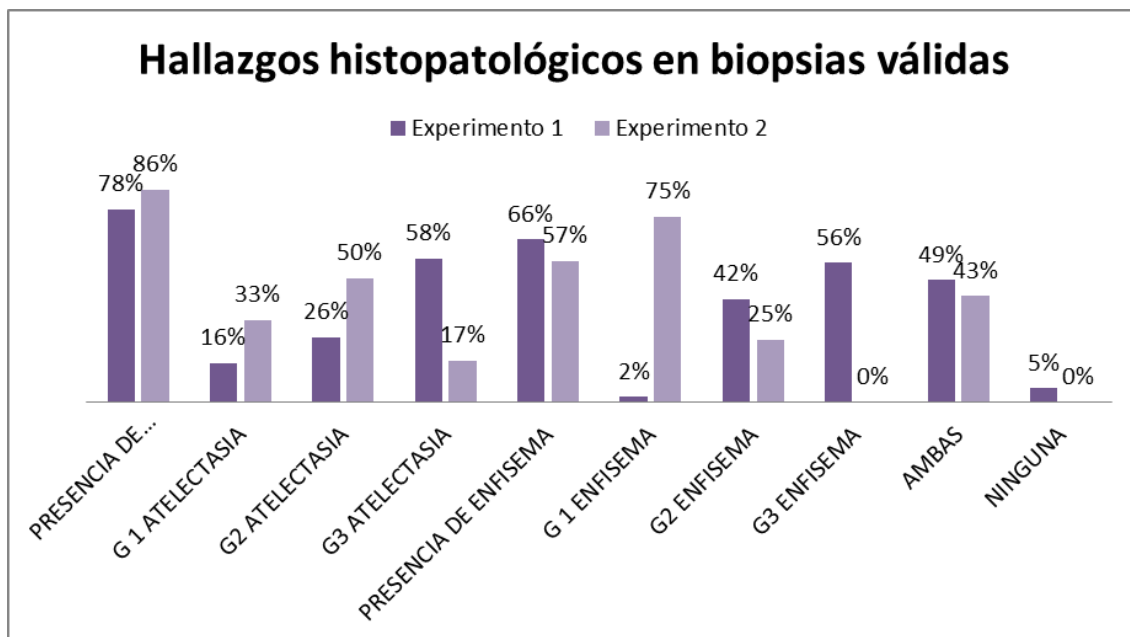
La predicción de la presencia de tejido pulmonar a partir de la visualización macroscópica de la muestra por parte del endoscopista (presencia de tejido pulmonar sí o no), considerando las mismas muestras aptas para el estudio de la pleura (n=68), mostró una sensibilidad del 97,2% y una especificidad del 71,4% (valor  $k=0,687$  y  $P<0,0001$ ). Tal y como se puede ver en la tabla 26, el porcentaje de muestras con un tamaño estimado  $>2\text{mm}$  presentó una tendencia a ser mayor cuando la biopsia se obtenía a partir de los lóbulos craneales en lugar de los caudales ( $P=0,061$ ). Por otro lado, el porcentaje de muestras en donde el endoscopista estimaba presencia de tejido pulmonar, aunque numéricamente mayor en los lóbulos craneales, no resultó ser estadísticamente significativo ( $P=0,425$ ; tabla 26).

**Tabla 26.** Resultados de la estimación macroscópica del tamaño de muestra pulmonar obtenida mediante pinza de toracoscopia en terneros de cebo *postmortem* y estimación subjetiva de existencia de tejido (sí o no) efectuada por el endoscopista, distribuidos según el lóbulo pulmonar de origen de la muestra (experimento 1).

	TAMAÑO MACROSC. DE LA MUESTRA <2mm	TAMAÑO MACROSC. DE LA MUESTRA ≥2mm	P	Estimación existencia de tejido pulmonar POSITIVO	Estimación existencia de tejido pulmonar NEGATIVO	P
<b>GLOBAL</b>	33,8%(23/68)	66,2%(45/68)		91,2%(62/68)	8,8%(6/68)	
<b>LÓBULOS CRANEALES</b>	22,6%(7/31)	77,4%(24/31)	0,061	93,5%(29/31)	6,5%(2/31)	0,425
<b>LÓBULOS CAUDALES</b>	43,2%(16/37)	56,8%(21/37)		89,2%(33/37)	10,8%(4/37)	

*S: sensibilidad del indicador de la izquierda (tamaño macroscópico o presencia de color rosado); E: especificidad del indicador de la izquierda (tamaño macroscópico o presencia de color rosado).*

En cuanto a los hallazgos histopatológicos de todas las muestras de pulmón analizadas, un 78,1% (57/73) de las muestras mostró signos de atelectasia, mayoritariamente de grado 3 (57,9%; 33/57); y un 65,8% (48/73) enfisema, en su mayoría también de grado 3 (56,3%; 27/48). Tan sólo en cuatro biopsias de las 73 que resultaron aptas para el diagnóstico (5,5%) no se detectó ni enfisema ni edema, mientras que en el 49,3% de los casos (36/73) se encontraron ambas lesiones (figura 54).

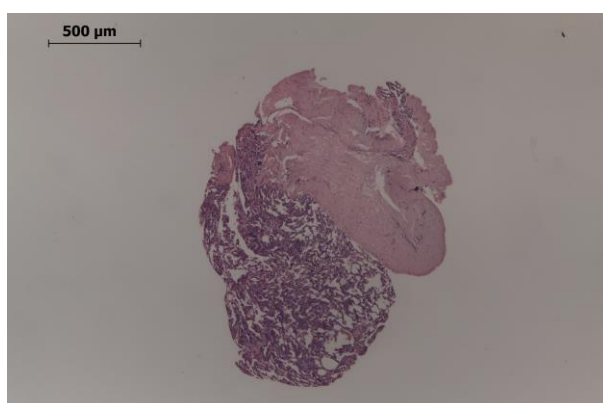


**Figura 54.** Hallazgos histopatológicos a partir de muestras válidas de biopsia mediante pinza toracoscópica a partir de pulmones de terneros *postmortem* e *in vivo* (experimentos 1 y 2, respectivamente). *Valoración de la gravedad en 3 grados G1, G2 y G3, de menor a mayor gravedad respectivamente.*

### 6.2.2. Experimento 2

La toma de muestras de biopsia de pulmón mediante toracoscopia se realizó en condiciones adecuadas de bienestar y cuidado animal, similares a las descritas en el capítulo 2 (toracoscopia desde abordaje alto mediante endoscopio flexible). Los procedimientos se llevaron a cabo en un tiempo aproximado de 15 minutos y los animales se recuperaron en el 100% de los casos con normalidad, sin manifestar complicaciones al cuadro respiratorio que presentaban.

El porcentaje total de muestras de biopsia válidas fue del 46,67% (7/15). En tres de los animales se tomaron cuatro muestras y en uno de ellos tres. Se obtuvo una muestra válida para el diagnóstico en tres de los cuatro animales y cuatro (100%) en el cuarto animal. Siempre hubo al menos una muestra válida para el diagnóstico por animal (figura 55), lo que supone un 100% (4/4) de animales con material biológico válido para el diagnóstico.



**Figura 55.** Imagen de una muestra de pulmón válida obtenida mediante toracoscopia en terneros vivos (experimento 2). *Imagen cedida por Jorge González Fernández (MICROS SL).*



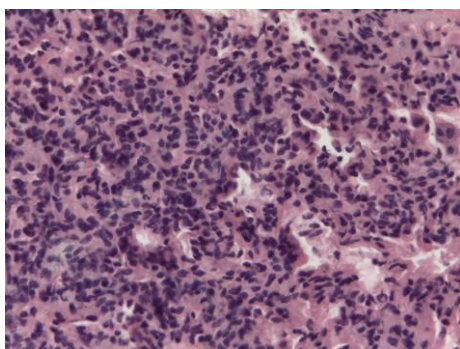
La predicción de la presencia de tejido pulmonar a partir de la visualización macroscópica de la muestra por parte del endoscopista, en el caso de los animales vivos, mostró una escasa sensibilidad del 50,0% y una especificidad del 66,7% (valor  $\kappa=0,069$  y  $P=0,662$ ).

**Tabla 27.** Resultados de la estimación macroscópica del tamaño de muestra pulmonar obtenida mediante pinza de toracoscopia en terneros *in vivo* y estimación subjetiva de existencia de tejido (sí o no) efectuada por el endoscopista, distribuidos según el lóbulo pulmonar de origen de la muestra (experimento 2).

	TAMAÑO MACROSC. DE LA MUESTRA <2mm	TAMAÑO MACROSC. DE LA MUESTRA ≥2mm	P	Estimación existencia de tejido pulmonar POSITIVO	Estimación existencia de tejido pulmonar DUDOSO	Estimación existencia de tejido pulmonar NEGATIVO	P
<b>GLOBAL</b>	60% (9/15)	40% (6/15)		53,33% (8/15)	26,66% (4/15)	20% (3/15)	
<b>LÓBULOS CRANEALES</b>	75% (6/8)	25% (2/8)	0,231	75% (6/8)	12,5% (1/8)	12,5% (1/8)	0,194
<b>LÓBULOS CAUDALES</b>	42,85% (3/7)	57,14% (4/7)		28,57% (2/7)	42,85% (3/7)	28,57% (2/7)	

*S: sensibilidad del indicador de la izquierda (tamaño macroscópico o presencia de color rosado); E: especificidad del indicador de la izquierda (tamaño macroscópico o presencia de color rosado).*

En cuanto a los hallazgos histopatológicos, los resultados obtenidos fueron similares a los de los animales sacrificados previamente, con un 85,7% de las muestras (6/7) que mostraron signos de atelectasia, mayoritariamente de grado 2 (50%; 3/6); y un 57,2% (4/7) enfisema, en su mayoría de grado 1 (75%; 3/4). No hubo ningún animal sin ningún tipo de lesión, mientras que en el 42,9% de los casos (3/7) se encontraron ambas lesiones (figura 54) y uno de ellos mostró, además, signos de inflamación aguda (figura 56).



**Figura 56.** Imagen de una muestra de biopsia de pulmón con infiltrado leucocitario intenso tomada mediante toracoscopia en un ternero vivo (experimento 2). *Imagen cedida por Jorge González Fernández (MICROS SL).*

### 6.3. DISCUSIÓN

En el presente estudio se pudo obtener, al menos, una muestra válida para su diagnóstico en cada uno de los animales de ambos experimentos, con mejores resultados en los muestreos *posmortem*. Además, en el experimento 1 se encontraron tendencias significativas en el grosor de la pleura visceral de los lóbulos craneales respecto del de los caudales, con la pleura de estos últimos más gruesa, lo que probablemente fuera la causa de que las biopsias de los lóbulos craneales tuvieran parénquima o tejido pulmonar en mayor proporción, fueran analizables en mayor proporción y presentaran significativamente más superficie de parénquima analizable. Por el contrario, no se halló influencia significativa de la edad o el peso a la canal sobre el grosor de la pleura, ni sobre la capacidad de obtener una muestra válida, aunque podemos hablar de tendencia a menor grosor de pleura en las hembras respecto de los machos, y de una tendencia a una mayor superficie pleural en los animales de más peso. Finalmente, en el experimento 1 se evidenció que la estimación macroscópica de existencia de tejido pulmonar, por parte del endoscopista (presencia sí o no de tejido) puede considerarse como un indicador adecuado de viabilidad de la muestra. Un dato interesante es que en un alto porcentaje de las muestras válidas de biopsia se apreció enfisema y/o atelectasia.

Es muy poca la información disponible en el ganado vacuno sobre las características que deben tener las muestras de biopsia para aportar información diagnóstica, y ninguna cuando hablamos de la BT. Cuando revisamos la biopsia transbronquial sólo encontramos información en pequeños animales, donde la recomendación más extendida es la de procurar usar herramientas que permitan muestreos de más de 2 mm para obtener muestras válidas (Johnson, 2001), ya que el tamaño de la muestra es la mayor limitación descrita de la técnica (Prohl *et al.*, 2014).

El porcentaje de biopsias válidas en nuestro estudio fue del 91% en el muestreo *posmortem* y del 47% en animales vivos. Nuestros resultados *posmortem* mejoran los descritos mediante biopsia percutánea en ganado vacuno (Braun *et al.*, 2000, 1999; Burgess *et al.*, 2011, Sydler *et al.*, 2004). Por ejemplo, en un estudio donde se realizó biopsia pulmonar de tipo percutánea en vacas vivas mediante guía ecográfica, se tomaron muestras desde uno a más de 4 milímetros, y se obtuvo tejido pulmonar en el 71% de las veces (Sydler *et al.*, 2004), aunque se trataba de animales sanos, lo que podría influir en el mayor porcentaje obtenido en relación a nuestros resultados *in vivo*. De hecho, en un estudio donde se realizaron biopsias *in vivo* y muestreos *postmortem*, se determinó que la valoración histológica era más compleja en las biopsias que en las muestras *postmortem* (Burgess *et al.*, 2011), lo que puede sustentar la teoría de que es más complicado obtener muestras válidas *in vivo*. Creemos que pueden obtenerse mejores resultados a los obtenidos en nuestros muestreos, con el desarrollo de cierta destreza y familiarización con el aparato para la realización de la técnica de manera más eficiente, especialmente en la toma de muestras *in vivo*. Es decir, con más experiencia. No obstante, el hecho de obtener tan sólo una muestra válida en tres de los animales no tiene por qué ser limitante, siempre y cuando haya, al menos, una biopsia apta, tal y como se expone en un estudio realizado en 1998 donde se determinó que las probabilidades de llegar a un diagnóstico dependen más del tamaño

(asociado en el estudio a la validez de la muestra) que del número de muestras (Curley *et al.*, 1998).

La pleura que rodea íntimamente al pulmón se denomina pleura visceral y es una parte del pulmón que siempre extraemos parcialmente como parte de la muestra cuando tomamos una BT. La pleura visceral del bovino es un tejido conectivo fibroso rico en proteoglicanos (Francis y Thomas, 1975), que confieren al pulmón una estructura de soporte, además de otras propiedades biológicas (Radhakrishnamurthy *et al.*, 1980). Hasta la fecha, no teníamos datos de la posible resistencia de este tejido conectivo como complicación a la técnica de BT, como tampoco de posibles variaciones de este tejido en función de factores como el lóbulo pulmonar, el sexo, el peso o la edad de los animales.

En nuestro estudio, parece que el hecho de que se obtuvieran muestras con mayor tamaño general (más muestras de >2mm) y mayor superficie de parénquima pulmonar cuando éstas provenían de los lóbulos craneales en relación a los caudales, tiene relación con el mayor grosor de la pleura de los lóbulos caudales en relación a los craneales. Esto podría explicar que se apreciara, en general, una mayor resistencia en la retracción de la pinza de biopsia en los lóbulos caudales al efectuar la toma de muestras, tanto en animales muertos como vivos. A nivel clínico es muy interesante esta información ya que son precisamente los lóbulos craneales y en particular los derechos los que suscitan un mayor interés diagnóstico, dado que son los primeros en afectarse (Epperson, 2003), y en base a estos resultados observamos que son los más indicados para la toma de biopsia, por lo que podemos concluir que cuando se realice la BT en ganado bovino deberemos biopsiar preferentemente los lóbulos craneales derechos. El hecho de que el tamaño de la muestra sea la mayor limitación para el desarrollo del potencial diagnóstico de la BT se da por la asociación del pequeño tamaño de la muestra a una mayor probabilidad de pérdida de parénquima, lo que hace suponer que la verdadera limitación es la presencia o ausencia de parénquima pulmonar más que el tamaño real de la muestra (Callejas Pérez *et al.*, 1995).

Aunque no hay referencias a este dato en la bibliografía, sí está descrito que existen variaciones en la composición del tejido conectivo del pulmón con el fin de ser capaz de mantener su función biológica (Seethanathan *et al.*, 1975), tal y como existen diferencias en la composición de los proteoglicanos de otras partes del aparato respiratorio del bovino (Seethanathan *et al.*, 1980). Dado que una de las principales funciones biológicas de la pleura es la de sostén (Radhakrishnamurthy *et al.*, 1980), es de esperar que los lóbulos con una mayor superficie visceral tengan una pleura más gruesa. De hecho, observamos una tendencia a un menor grosor pleural en las hembras, por lo que esperaremos mejores resultados de viabilidad de la muestra de BT en este sexo, y también, observamos una tendencia a mayor superficie pleural en animales con más peso, por lo que también esperaremos mejor eficiencia de muestras de biopsia en animales de menos de 250 kg de peso vivo.

Por otro lado, la estimación por parte del endoscopista de la presencia de tejido pulmonar a partir de la visualización macroscópica de color rosado en la muestra mostró una alta sensibilidad englobando todas las muestras en general (92,5%) y

cuando analizamos sólo las muestras obtenidas *postmortem* (97,2%), lo que es un indicio interesante a la hora de decidir o no desechar las muestras. Por lo general, el factor predictivo de validez diagnóstica de la muestra se ha basado fundamentalmente en el tamaño de las muestras, con resultados y recomendaciones muy variables en la bibliografía, con la aceptación casi generalizada de que las muestras de biopsia pulmonar menores a dos milímetros no son válidas (Burgess, 2011; Curley *et al.*, 1998; Johnson, 2001). Sydlar realizó un estudio minucioso de las muestras de biopsia pulmonar obtenidas en vacas sanas, donde encontraron biopsias de 1-2 mm con más de 30 alveolos, catalogadas como utilizables (Sydlar *et al.*, 2004). Por otro lado, las biopsias de menos de 1mm fueron consideradas como no aptas para su valoración diagnóstica.

Otro indicador descrito en la bibliografía es el “signo de flotación” de las biopsias pulmonares al introducirlas en la formalina tamponizada al 10%, lo que podría indicar positivamente la presencia de aire dentro de la muestra (Sydlar *et al.*, 2004), aunque con resultados confrontados a los de otros autores que creen que no influye en la capacidad diagnóstica de las biopsias percutáneas (Burgess, 2009; Curley, 1998). Finalmente, la escasa sensibilidad observada en las 15 muestras de BT obtenidas en animales *in vivo*, se podría explicar, además de por escasa experiencia aún por parte del equipo de endoscopistas en realizar la biopsia pulmonar *in vivo*, también por unas condiciones de peor iluminación en las instalaciones en donde se efectuaron (en cebadero), que dificultaba en parte, dicha valoración.

En cuanto a los hallazgos histopatológicos, los resultados obtenidos fueron similares entre los animales sacrificados y los animales vivos en cuanto a porcentaje de incidencia de cada lesión pero en el caso de los animales vivos, predominaron, tanto la atelectasia como el enfisema de menor gravedad. El alto porcentaje de enfisema y/o atelectasia (>65%) encontrado en las muestras válidas de biopsia, difiere con el 9,5% descrito por Burgess y colaboradores, donde se observaron cambios histopatológicos (Burgess *et al.*, 2013). Esta diferencia podría explicarse en el experimento 1 de manera fisiológica por las consecuencias propias del sacrificio, especialmente los casos de enfisema grave o de grado 3, que pueden ser producidos por respiraciones de tipo agónico (González-Martín y Pérez Villalobos, 2015); y en el experimento 2 por la afección clínica manifiesta de los animales por SRB.

En resumen, los resultados de este estudio muestran una alta viabilidad diagnóstica cuando la muestra proviene de animales recién sacrificados y una viabilidad intermedia cuando se realiza en animales vivos afectados por SRB. Por otro lado, se pone de manifiesto que siempre que se obtenga, al menos, una muestra válida de tejido pulmonar por animal, se pueden obtener conclusiones diagnósticas. Además, la viabilidad de las biopsias vienen en parte determinadas por la evidencia de un mayor grosor de la pleura de los lóbulos caudales con respecto a los craneales, siendo más sencillo y de mayor interés clínico obtener muestras de los lóbulos craneales, los cuales, además, son los primeros en afectarse en el SRB. Por último, será recomendable escoger positivamente las biopsias que muestren un punteado rosáceo como signo de viabilidad diagnóstica de la muestra, independientemente, incluso de su tamaño estimado mayor o menor de 2mm.

Se requiere experiencia para desarrollar una mayor destreza por parte de los endoscopistas veterinarios para mejorar los resultados obtenidos *in vivo* (vídeo 4) y de más estudios que evidencien las posibilidades diagnósticas de las biopsias obtenidas por toracoscopia en el ganado vacuno, especialmente en terneros afectados por síndrome respiratorio bovino.

**Vídeo 4.** Momento de la toma de biopsia pulmonar mediante toracoscopia en un ternero con SRB: [www.veton-line.com/Tesis/Biopsiando.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Biopsiando.mp4)

#### **6.4. CONCLUSIONES**

Con este estudio se demuestra que las muestras obtenidas mediante la pinza de BT y realizadas mediante un broncoscopio con canal de trabajo de menos de seis milímetros de diámetro, en el ganado vacuno, muestran viabilidad diagnóstica, tanto en animales recién sacrificados como en animales vivos afectados por SRB. Se pone también de manifiesto la indicación clínica y técnica de elegir el lóbulo pulmonar craneal derecho (por el mayor interés clínico y por la mejor eficiencia de viabilidad de muestra de BT). Por último, será recomendable escoger positivamente las biopsias que muestren un punteado rosáceo como signo de viabilidad diagnóstica de la muestra y realizar un entrenamiento previo de la técnica de muestreo.

## **CAPÍTULO 4**



## 7. CAPÍTULO 4

### **Estudio comparativo de la eficiencia diagnóstica en el síndrome respiratorio bovino, a partir de la exploración clínica, técnicas de diagnóstico por imagen y análisis laboratoriales de diversas muestras obtenidas *in vivo* en terneros de cebo**

Tal y como se ha expuesto en los apartados anteriores, tanto la toracoscopia como la biopsia toracoscópica son herramientas de gran interés en el diagnóstico de SRB (Janssen, 2010). De hecho, en pequeños animales, cuando los resultados de otras pruebas realizadas *in vivo* como la radiología, el BAL, o la punción transtorácica arrojan resultados inconcluyentes, se indica la biopsia pulmonar directa (Norris *et al.*, 2001). Dado que algunas de las bacterias emergentes en el SRB son de difícil aislamiento, como es el caso de *M. bovis* o *H. somni* (Woolums, 2015), sería importante determinar si es posible obtener un diagnóstico etiológico eficaz a partir de la biopsia pulmonar en el vacuno, unido al resto de información obtenida tras la exploración médica general y tras la visualización pulmonar mediante toracoscopia.

Por tanto, el objetivo del presente estudio fue valorar la información diagnóstica obtenida mediante BT y exploración toracoscópica en comparación con la información que pueden aportar otras muestras tomadas *in vivo* y de uso rutinario en terneros con SRB, además de los resultados de la exploración clásica (objetivo específico 7).

#### **7.1. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### **7.1.1. Instalaciones, animales y procedimiento**

El estudio se llevó a cabo en las dependencias del Hospital de Grandes Animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, durante el mes de mayo de 2015, con los terneros alojados en un patio exterior provisto de sombra, sin contacto con otros terneros, con agua y alimento a libre disposición.

Las pruebas diagnósticas se realizaron en tres terneros macho, con un peso medio de 150 kg y cinco meses de edad, de cruces de razas de aptitud cárnica, diagnosticados como enfermos crónicos de SRB, según los signos clínicos previamente descritos en capítulos anteriores (fiebre de  $\geq 40^{\circ}\text{C}$ , dos o más signos clínicos de SRB., dos o más tratamientos antibióticos sin curación y un retraso en el crecimiento o importante pérdida de peso; (Pardon *et al.*, 2013). Los estudios diagnósticos en los tres animales se efectuaron en dos réplicas separadas cinco días entre ellas.

En primer lugar, se realizó la exploración clínica de todos los animales según la clasificación establecida en la tabla 28, considerando una clasificación general del grado de enfermedad del animal, la puntuación de los signos respiratorios presentes y



la ausencia o presencia de fiebre, tal y como se ha descrito para los terneros de los experimentos en el capítulo primero.

**Tabla 28.** Protocolo para la valoración de los signos clínicos para el diagnóstico de SRB en terneros de cebo. *Tabla ya citada como tabla 14 en el capítulo primero.*

Puntuación de enfermedad	Signos respiratorios	Temperatura rectal
<b>0</b> = Sano; alerta <b>1</b> = Levemente enfermo; depresión moderada <b>2</b> = Moderadamente enfermo; depresión de moderada a marcada <b>3</b> = Gravemente enfermo; depresión grave <b>4</b> = Moribundo; incapaz de levantarse	<u><b>Frecuencia respiratoria:</b></u> Taquipnea ( > 40 rpm) <u><b>Disnea:</b></u> 0=ausencia; 1=moderado; 2=grave <u><b>Descarga nasal:</b></u> 0=ausente; 1=serosa; 2=purulenta <u><b>Tos:</b></u> 0=ausencia; 1=suave 2=fuerte; 3=dolorosa	<b>Fiebre: <math>\geq 40^{\circ}\text{C}</math></b>

Durante la primera réplica experimental, todos los animales se ecografiaron en ambos hemitórax por un ecografista experimentado y diferente del veterinario que exploró mediante toracoscopia a los tres terneros en ambas réplicas y sin conocer ninguno de los dos veterinarios, los juicios clínicos emitidos por la otra metodología diagnóstica.

En ambas réplicas, todos los animales se exploraron y biopsiaron mediante toracoscopia en el pulmón derecho, dado que es este lado el primero en afectarse (Epperson, 2003), que cabe esperar que la enfermedad tenga una presentación bilateral (Andrews y Kennedy, 1997), y que según los resultados obtenidos en los estudios realizados y descritos en el capítulo 2, los podemos considerar representativos de la enfermedad de SRB sufrida por los terneros.

Una vez confirmada, mediante ecografía y toracoscopia, la extrema gravedad del proceso que sufría uno de los terneros, se decidió no someterle a la toma de los muestreos considerados más incómodos para el animal (BAL) y fue eutanasiado por razones humanitarias, practicándosele la necropsia una vez concluido el estudio.

Se efectuó el estudio de gasometría y bioquímica arterial para la valoración de la situación inicial de los animales y la recuperación de los mismos tras el examen toracoscópico y la toma de biopsias de la primera réplica.

Con el fin de determinar la etiología infecciosa de los procesos se procedió en ambas réplicas a la determinación del contacto por parte de los terneros con los principales virus respiratorios (DVB, IBR y VRSB) por serología (determinación de Ac) y PCR, y de bacterias consideradas patógenas en el vacuno, que incluían aquellas pertenecientes a la familia de las pastereláceas (*M. haemolytica*, *H. somni*, *P. multocida*) así como *T. pyogenes*, mediante cultivo microbiológico y PCR; y se procesaron las muestras biológicas de manera específica para la detección de *M. bovis*.

### 7.1.2.Extracción de las muestras biológicas *in vivo*

Se tomaron un total de ocho muestras de sangre arterial de la arteria auricular, seis muestras de suero sanguíneo obtenido de la vena coccígea, 12 hisopos nasofaríngeos, dos lavados bronquioalveolares (BAL) que se dividieron en un total de seis alícuotas (tres por BAL), 21 biopsias y seis muestras de necropsia de pulmón (del único animal sacrificado), en las dos réplicas de muestreos, separadas entre sí por cinco días (tabla 29).

Los tres animales se sometieron paralelamente a toda la batería de muestreos y pruebas laboratoriales reflejadas en las tablas 29 y 30, exceptuando el ternero T-3, que como comentamos anteriormente, se excluyó en la ronda de muestreo de BAL.

La metodología específica de cada muestreo fue la siguiente:

- Las muestras de sangre arterial se tomaron mediante cateterización de la arteria auricular con una vía de 22G (0,99 mm de diámetro) y una jeringa estéril de dos mililitros. Se tomó una muestra diez minutos antes de realizar la toracoscopia, una durante la ejecución de la técnica (incluyendo la biopsia) y otra a los diez minutos de finalizar la técnica. En el ternero T-3 no fue posible tomar la muestra durante el procedimiento.
- Las muestras de sangre venosa se tomaron desde la vena coccígea mediante sistema de vacío Vacutainer® en tubos sin anticoagulante de cinco mililitros (Vacuette S.L., San Sebastián de los Reyes, Madrid, España) para la extracción de suero.
- Se utilizaron hisopos nasofaríngeos estériles de 30 cm de longitud con camisa protectora [Médical Wire & Equipment Co. (Bath) Ltd., Reino Unido] con medio de transporte tipo Amies. Se introdujeron en los terneros a través de uno de los orificios nasales, con el ternero con el cuello extendido y la camisa protectora cubriendo la torunda de algodón, para retirarla una vez introducidos dos tercios de la longitud del hisopo y realizar un movimiento circular que permita el contacto del extremo del hisopo con las paredes del aparato respiratorio superior del ternero. A continuación se deslizó de nuevo la camisa protectora cubriendo la torunda y se extrajo de las vías aéreas para introducirse en el medio de transporte.
- Para el BAL se utilizó un tubo de plástico estéril de un metro de longitud y cinco milímetros de diámetro, conectado a una jeringa también estéril de 25 ml, introduciéndose 20 ml de suero fisiológico estéril (Braun Medical S.A., Barcelona, España). La colocación e introducción del tubo se realizó con el mismo procedimiento que el de la toma de hisopos, hasta introducir entre 1/2 y 2/3 del tubo, momento en que se introducían los 20 ml de suero para recogerse el lavado, de nuevo, aspirando.
- Las ecografías se realizaron con los animales dentro de una manga de manejo convencional, rasurando previamente la exploración y utilizando gel de ecografía durante el examen.
- Las biopsias se tomaron mediante una pinza endoscópica a través del canal de trabajo del endoscopio utilizado para la toracoscopia mediante observación directa de la zona afectada y a biopsiar. Para realizar las BT, se efectuó el

procedimiento toracoscópico en base a los resultados obtenidos en el capítulo segundo, considerando la idoneidad de efectuar un abordaje alto, entre el cuarto y el sexto espacio intercostal, mediante broncoscopio flexible; y en base a los resultados del capítulo tercero, seleccionando las muestras de biopsia con punteado rosáceo a la extracción y a partir de los lóbulos craneales, elegidos como lóbulos diana para obtener la mayor extensión posible de parénquima pulmonar en las muestras de biopsia, tal y como se determina y describe tras la experiencia en el capítulo 3. La preparación básica del animal fue la misma que la descrita en los capítulos 2 y 3.

Por último, se practicó una necropsia completa y sistemática, de donde se tomaron muestras de tejido pulmonar mediante bisturí en tamaños de entre uno y dos centímetros, depositándose en viales estériles y en formalina al 10%.

**Tabla 29.** Tipos de muestras biológicas tomadas *in vivo* en tres terneros de cebo con SRB.

	SA	SV	HISOPOS	BAL	BIOPSIAS	PN
<b>T1</b>	3	2	4	1x3	7	-
<b>T2</b>	3	2	4	1x3	7	-
<b>T3</b>	2*	2	4	-	7	6
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>2x3</b>	<b>21</b>	<b>6</b>

*Abreviaturas: T1: ternero nº1; T2: ternero nº 2; T3: ternero nº 3; SA: sangre arterial; SV: sangre venosa; PN: pulmón obtenido en necropsia; \* parámetros incompatibles con sangre arterial.*

### 7.1.3. Conservación y manejo de las muestras

Se establecieron diferentes protocolos de almacenado y procesado en función del tipo de muestra y de la prueba laboratorial a realizar (tabla 30):

- Las muestras de sangre arterial se procesaron de manera inmediata corregidas por la temperatura corporal del animal, para llevar a cabo la gasometría y bioquímica arterial en las instalaciones del Hospital Veterinario de Madrid.
- Para la obtención del suero, las muestras de sangre venosa se dejaron dos horas a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo y se centrifugaron posteriormente a 1500 rpm durante 15 minutos, tras lo que se extrajo el suero. Éste se mantuvo congelado a -18°C hasta su envío, que se realizó en congelación.
- Los hisopos nasofaríngeos, las muestras de pulmón (muestras de necropsia y/o biopsia) y las muestras de fluido del lavado broncoalveolar (BAL) **destinados a cultivo bacteriano**, recogidas en recipientes estériles, se almacenaron a 4°C hasta su posterior procesamiento 24 horas después.

- Los hisopos nasofaríngeos, las muestras de biopsia de pulmón y de fluido de BAL **destinados a determinación de virus y bacterias respiratorios (excepto *M. bovis*) mediante PCR**, se almacenaron en recipientes estériles a -80°C hasta su envío, el cual se realizó mediante conservación en nieve carbónica hasta su posterior procesamiento.
- Los hisopos nasofaríngeos destinados a realizar la **determinación de *Mycoplasma bovis* mediante PCR** se suspendieron en 1 ml de caldo PPLO (Difco, EEUU) y se desecharon las torundas. Las suspensiones en dicho caldo se incubaron a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>, durante 48 horas. A continuación, la cantidad final de un ml/hisopo de este caldo, se almacenó junto con las muestras de pulmón (muestras de necropsia o biopsia), y junto con un ml de fluido BAL/muestreo, en condiciones de -80°C hasta su envío, el cual se realizó mediante conservación en nieve carbónica hasta su posterior procesamiento.
- Las biopsias y muestras pulmonares de necropsia **destinadas a examen histopatológico** se suspendieron en formalina al 10% en tubos eppendorf hasta su envío al laboratorio.

**Tabla 30.** Número total de pruebas diagnósticas de laboratorio realizadas por cada tipo de muestra obtenida a partir de terneros de cebo con SRB.

TIPO DE MUESTRA	PRUEBA DE LABORATORIO					
	G/B	ELISA	CB	PCR-bvr	PCR-m	HP
BIOPSIA	0	0	3	6	6	6
HISOPO	0	0	6**	6**	6	0
BAL	0	0	4	4	2	0
SV	0	6	0	0	0	0
SA	6 (2*)	0	0	0	0	0
PN	0	0	2**	2**	2	2
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>16</b>	<b>8</b>

Abreviaturas: G/B: gasometría y bioquímica sanguínea; CB: cultivo bacteriológico; PCR-bvr: PCR de bacterias y virus respiratorios; PCR-m: PCR para detectar *M. bovis*; HP: histopatología; SV: sangre venosa; SA: sangre arterial; PN: pulmón obtenido en necropsia; \* dos muestras del ternero T3 con parámetros incompatibles con sangre arterial; \*\* mismas muestras utilizadas para CB y PCR-bvr.

#### 7.1.4. Análisis laboratoriales

##### *Gasometría y bioquímica sanguínea*

Estas pruebas se realizaron de manera inmediata mediante un procesador automático Radiometer, ABL90 Series, por parte del Servicio de Patología Clínica del Hospital Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid, para la determinación de los valores de gases en sangre, oximetría, electrolitos y metabolitos.

##### *Determinación de principales bacterias y virus respiratorios*

La determinación de los principales virus respiratorios y las bacterias consideradas patógenas en el vacuno, de la familia de las pasterelecias y *T. pyogenes*, se llevó a cabo por el laboratorio de diagnóstico clínico Diagnos (Hipra S.L., Amer, Gerona).

Para el procesamiento de las serologías mediante determinación de la presencia de anticuerpos frente a los virus respiratorios utilizaron kits convencionales de ELISA ("CIVT BOVIS VRSB, DVB7BD P80, IBR"), con lectura automática en un equipo TECAN Sunrise 5580.

Además, se realizó en este mismo laboratorio una determinación de estos agentes mediante una PCR convencional utilizando *primers* Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Company Ltd., Dorset, Reino Unido) para *M. haemolytica*, *H. somni*, *P. multocida* y *T. pyogenes*. Cada PCR se llevó a cabo usando un kit comercial (HotStarTaq DNA polimerasa kit, Qiagen Ltd., Manchester, Reino Unido). Cada reacción contenía 25 µl de nuestra suspensión x 1 de tampón de PCR, 200 µM de desoxirribonucleótido trifosfato, 0,5 µM de cada cebador, 2,5 U de ADN polimerasa, y 5 µl de ADN control. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador convencional (Applied Biosystems GeneAmp PCR system 9700, Life Technologies Ltd., Paisley, reino Unido) de acuerdo a los siguientes parámetros: activación a 95°C durante 15 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante un minuto, y recalentado a 67°C durante un minuto para *M. haemolytica*, a 57°C durante un minuto para *H. somni*, a 59°C durante un minuto para *P. multocida* ya 62°C durante un minuto para *T. pyogenes*, y una etapa final de extensión a 72°C durante diez minutos.

##### *Determinación de M. bovis*

Las muestras recogidas para la determinación de *M. bovis* se procesaron en el laboratorio de diagnóstico clínico NEIKER-Tecnalia (Parque Tecnológico de Bizkaia, Derio, BIZKAIA), mediante una PCR multiplex según el procedimiento publicado por Foddai (Foddai *et al.*, 2005). Esta PCR fue diseñada para detectar *M. bovis* y *M. agalactiae*. En nuestro estudio sólo se utilizaron los cebadores dirigidos específicamente frente a *M. bovis* (mp1F mb y mb-mp1R). El ADN a procesar se extrajo utilizando un kit comercial (kit de ADN QIAamp Mini Qiagen; Reino Unido) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Cada reacción contenía 25µl de nuestra suspensión x 1 de tampón, 2,0mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM dNTPs, 0,4µM mb-mp1F, 0,4 µM mb-mp1R, 1,25 unidades de Taq ADN polimerasa y 5µl de ADN control. La amplificación se realizó en un termociclador (T100™ Thermal Cycler BIO-RAD) usando las siguientes condiciones: 95°C durante cuatro minutos, seguido por 30 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 52°C durante 30 segundos, y 72°C durante un min; y una etapa final de extensión cinco minutos a 72°C. Además, se incluyeron controles positivos y negativos en cada ejecución. La electroforesis se llevó a cabo en un gel de agarosa al 1,5% con contenido GelRed™ (1:10.000) y se visualizó en un transiluminador UV. Los tamaños de amplificación fueron de 427 pb.

#### *Valoración histopatológica de las muestras de pulmón*

La valoración histopatológica de las muestras de pulmón la llevó a cabo el laboratorio de diagnóstico clínico Micros Veterinaria S.L. (León, España). Una vez en el laboratorio, las muestras se traspasaron para su fijación a formalina tamponada del 4 al 10%. Debido al pequeño tamaño de las muestras, éstas se incluyeron completamente, realizando el procesado histológico convencional, mediante deshidratación con alcoholes, xilol e inclusión en parafina. Se realizaron cortes de tres micras de grosor, los cuales fueron teñidos mediante hematoxilina-eosina. En el caso de las muestras de animales con lesión se realizó una tinción de Gram para determinar la eventual presencia de bacterias en las muestras. Además, se realizó la descripción de las lesiones observadas en las muestras pulmonares.

#### **7.1.5. Equipamiento**

Para realizar el examen ecográfico se utilizó una sonda lineal de 5-8 MHz (SonoSite Inc., Bothell, WA) y un ecógrafo a tiempo real SonoSite S-Series (SonoSite Inc).

Para la toracoscopia se utilizó un vídeo endoscopio veterinario flexible Braun AV3003S, de 920 mm, con canal de trabajo de 5,98 mm, así como la pinza de biopsia Braun de apertura de hasta 8 mm, accesoria al equipo.

## 7.2. RESULTADOS

Los resultados generales obtenidos de cada prueba diagnóstica y que comentaremos uno a uno posteriormente, pueden observarse resumidos en la tabla 31.

**Tabla 31.** Resultados obtenidos en cada ternero de cebo con SRB clínico, en función del procedimiento diagnóstico aplicado para el diagnóstico de esta patología.

PROCEDIMIENTO DIAGNÓSTICO	TERNERO		
	T-1	T-2	T-3
<b>Exploración clínica</b>	Moderadamente enfermo	Moderadamente enfermo	Gravemente enfermo
<b>Examen ecográfico</b>	Neumonía crónica en lóbulos craneales	Neumonía crónica en lóbulos craneales y fibrosis en lóbulo medio	Neumonía generalizada, pleuritis y microabscesos.
<b>Examen toracoscópico</b>	Neumonía en el lóbulo craneal derecho, adherencias, fibrina y enfisema localizado en el lóbulo caudal derecho.	Neumonía aguda con áreas crónicas en el lóbulo craneal derecho, tejido fibroso en el lóbulo medio, adherencias, fibrina y petequias, pericarditis y microabscesos en lóbulo medio y caudal	Lóbulo craneal derecho con aspecto friable, imagen de microabscesos en todo el pulmón
<b>Gasometría y bioquímica sanguínea</b>	Saturación arterial estable(SA)	Saturación arterial estable(SA)	Lactato muy elevado (SV)
<b>ELISA</b>	DVB+, VRSB dudoso(SV)	IBR dudoso (SV)	DVB+, VRSB+ (SV)
<b>Cultivo bacteriano</b>	<i>M. haemolytica</i> + (hisopo)	-	-
<b>PCR-bvr</b>	<i>M. haemolytica</i> + (hisopo)	DVB+ (BAL)	-
<b>PCR-m</b>	<i>M. bovis</i> + (biopsia↓ e hisopos)	<i>M. bovis</i> + (biopsia, hisopos y BAL)	<i>M. bovis</i> + (biopsia↓, hisopos↓ y necropsia)
<b>Histopatología</b>	Neumonía exudativa purulenta y pleuritis (biopsia)	Neumonía bacteriana de carácter crónico. Lesión caseosa (biopsia)	Neumonía bacteriana de carácter crónico (biopsia)
<b>Necropsia</b>	-	-	Bronconeumonía caseonecrotica multifocal

SV: sangre venosa; SA: sangre arterial; +: positividad; ↓: baja positividad; PCR-bvr: PCR para la determinación de las principales bacterias y virus respiratorios; PCR-m: PCR para la determinación de *M. bovis*.

### 7.2.1. Resultados de la exploración clínica

Tanto el ternero T-1 como el T-2 presentaron los mismos parámetros (tabla 27) en la exploración clínica, considerándose moderadamente enfermos con una depresión moderada (grado 2), con taquipnea, disnea moderada (grado 1), descarga nasal serosa (grado 1), ausencia de tos (grado 0) y sin fiebre.

El T-3 presentaba un estado clínico de gravedad, con una marcada depresión (grado 3), con taquipnea, disnea moderada (grado 1), descarga nasal serosa (grado 1), tos suave (grado 1) y sin fiebre.

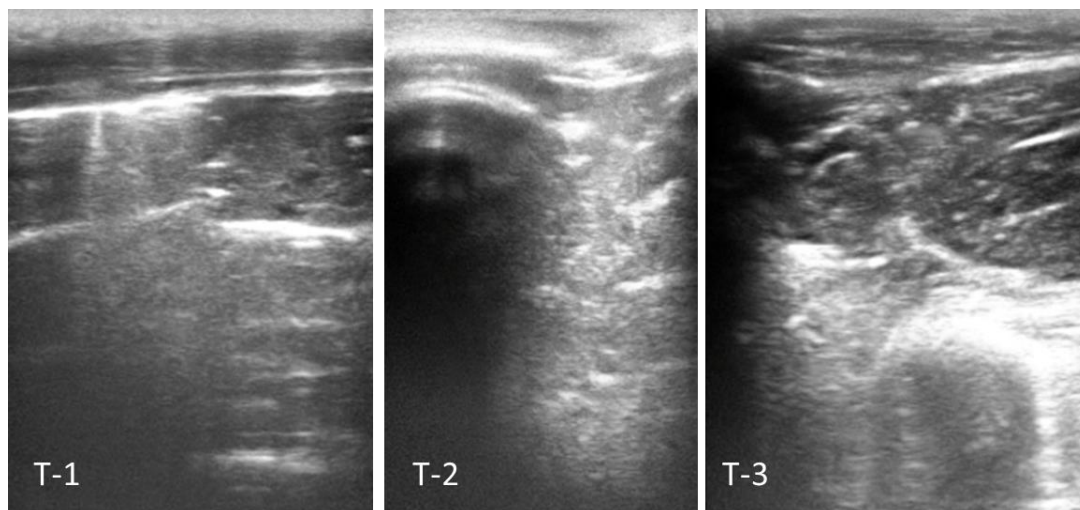
De manera que con la exploración clínica clásica fuimos capaces de diferenciar la gravedad del proceso del ternero T-3 respecto de la de los otros dos animales.

### 7.2.2. Resultados del examen ecográfico

El tiempo medio de la exploración ecográfica de los dos hemitórax de cada ternero fue de 10 minutos. Las principales conclusiones diagnósticas específicas fueron las siguientes:

- T-1: áreas de consolidación pulmonar en los lóbulos craneales (figura 57, T-1), compatibles con neumonía crónica. Los lóbulos caudales daban una imagen de tejido normoecogénico.
- T-2: patrón de consolidación en la región de los lóbulos craneales (figura 57, T-2), y concretamente con el lóbulo craneal derecho tendente a la hiperecogenicidad, con focos difusos compatibles con inflamación crónica. Además se observó fibrosis en el lóbulo medio, por delante del corazón, con aspecto hiperecogénico con calcificación e inflamación crónica. Los lóbulos caudales aparecen normoecogénicos.
- T-3: imagen más ecogénica que los casos anteriores en todo el área pulmonar. Imagen de los lóbulos craneales muy alterados y hepatizados (figura 57, T-3). Pleuritis con zonas anecogénicas e hiperecogénicas localizadas (compatible con abscesos y microabscesos) en área subpleural, compatibles con infección por *M. bovis*. Imágenes en “colas de cohete” en los lóbulos caudales, compatibles con lesiones agudas de pulmón. Además se encuentra como hallazgo casual una imagen hiperecogénica del hígado, compatible con esteatosis hepática.





**Figura 57.** Imágenes ecográficas de neumonía en los lóbulos craneales de los tres terneros (T-1 al T-3) ordenados por orden numérico.

Por lo tanto, con la ecografía ya fuimos capaces de recabar más información para diferenciar el proceso y su gravedad entre los tres animales, pudiendo considerarse el proceso del ternero T-2 como algo más avanzado que el del ternero T-1, y confirmándose la gravedad del T-3 como máxima.

### 7.2.3. Resultados del examen toracoscópico

El tiempo medio de la exploración completa de un hemitórax en cada ternero, incluyendo la toma de biopsias, fue de 15 minutos. Los tres terneros se exploraron en dos réplicas experimentales con un intervalo de cinco días de diferencia. Ningún animal mostró ninguna complicación intraquirúrgica y tan sólo se observó enfisema subcutáneo leve y de carácter transitorio tras el procedimiento y durante los dos días posteriores al mismo. Los principales hallazgos fueron los siguientes:

- T-1: afectación del 90% del lóbulo craneal derecho con imagen de zonas hepatizadas con posible reactivación inflamatoria por el color rojizo del lóbulo y signos de infección crónica por los restos de fibrina y las notables adherencias entre lóbulos. Lóbulo caudal derecho con adherencias de aspecto frágil y zonas localizadas con enfisema. **Vídeo 5.** [www.veton-line.com/Tesis/Video5.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Video5.mp4)
- T-2: afectación del 80% del lóbulo craneal derecho por infección aguda o reactivada y con el 20% restante afectado por lesión de tipo crónico. Aparecen adherencias de aspecto firme desde este mismo lóbulo. Área cicatricial en el lóbulo medio, con imágenes de pericarditis, restos de fibrina y petequias. Lóbulo medio y área craneal del lóbulo caudal derecho con imagen de microabscesos compatibles con infección por *M. bovis*. **Vídeo 6.** [www.veton-line.com/Tesis/Video2.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Video2.mp4)
- T-3: afectación del 100% del lóbulo craneal derecho con aspecto friable, imagen de microabscesos compatibles con infección por *M. bovis* activa o reactivada por el color rojizo del lóbulo, adherencias y restos de fibrina. Parte dorsal del lóbulo caudal derecho con zonas deprimidas y con la parte más craneal y ventral con microabscesos de aspecto crónico por el color pálido del tejido pulmonar. **Vídeo 7.** [www.veton-line.com/Tesis/Video3.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Video3.mp4)

La información por toracoscopia nos confirma los diagnósticos previos ecográficos y de exploración clínica, aportando aún más información valiosa, que permite concluir que el ternero T-1 padecía un SRB con reactivación aguda, requiriendo tratamiento antibiótico y con mejor pronóstico que los demás casos; en el T-2 observamos SRB con también, amplias zonas de reactivación de la infección de tipo agudo (indicándose igualmente tratamiento antibiótico), con mayor afectación pulmonar que el caso T-1 y posible infección de tipo crónico por *M. bovis*, con pronóstico reservado; y el T-3 mostró lesiones diseminadas de tipo crónico por todo el pulmón, compatibles con neumonía por *M. bovis*, con tratamiento desaconsejado y pronóstico infausto.

#### 7.2.4. Resultados de las pruebas de laboratorio

##### **Resultados de la gasometría y bioquímica sanguínea**

Los resultados obtenidos de las muestras destinadas a la gasometría y la bioquímica sanguínea mostraron valores incompatibles con sangre arterial en el caso T-3, por lo que los resultados de este ternero sólo se tuvieron en cuenta a nivel individual y para el valor de pH venoso y los parámetros bioquímicos referentes a electrolitos y metabolitos. Los resultados de **la gasometría** de los terneros T-1 y T-2 fueron muy homogéneos (tabla 32), mostrando ligeras variaciones respecto de los valores de referencia. La saturación de oxígeno arterial ( $\text{SaO}_2$ ) se mostró estable durante la toracoscopia, con una única disminución individual marcadamente por debajo del 95% (de hasta 88%) en T-1. No obstante, tanto T-1 como T-2 recuperaron satisfactoriamente los valores de  $\text{SaO}_2$  diez minutos después de la toracoscopia (95,5 y 99,4% para  $\text{SaO}_2$ , respectivamente).

La presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial ( $\text{PaCO}_2$ ) se mantuvo siempre dentro de los valores de referencia antes, durante y después de las toracoscopias, con ligeras oscilaciones, como se aprecia en la tabla 32.

La presión parcial de oxígeno arterial ( $\text{PaO}_2$ ) se mantuvo siempre por debajo de los límites de referencia, tanto en T-1 como en T-2, desde antes de comenzar la toracoscopia (80,3 y 78,3 mmHg, respectivamente), alcanzando sus valores mínimos durante la ejecución de la técnica (60 y 75,7 mmHg, respectivamente), elevándose una vez concluido el procedimiento, sin llegar a alcanzar los valores iniciales en el caso T-1 y superándolos en el T-2 (72,9 y 89,3 mmHg, respectivamente).

**Tabla 32.** Resultados de las pruebas de gasometría y bioquímica en sangre arterial expresados como medias  $\pm$  DE obtenidas a partir de terneros de cebo con síndrome respiratorio bovino sometidos a un procedimiento de toracoscopia en condiciones experimentales.

TIPO DE PARÁMETRO	PARÁMETRO	PRE-TC	INTRA-TC	POST-TC	VALORES DE REFERENCIA
Valores de gases en sangre arterial	pH	7,5 $\pm$ 0,07	7,5 $\pm$ 0,03	7,5 $\pm$ 0,01	7,4 $\pm$ 0,80*
	SaO <sub>2</sub> (%)	96,5 $\pm$ 1,85	92,5 $\pm$ 4,45	97,5 $\pm$ 1,95	96,6 $\pm$ 0,80*
Valores de gases en sangre arterial corregidos por temperatura	PaCO <sub>2</sub> (T)c (mmHg)	44,7 $\pm$ 3,45	45,30 $\pm$ 0,00	38,5 $\pm$ 3,30	45,0 $\pm$ 8,00**
	PaO <sub>2</sub> (T)c (mmHg)	79,3 $\pm$ 1,00	67,85 $\pm$ 7,85	81,10 $\pm$ 8,20	99,9 $\pm$ 13,30*
Estado ácido-base	cHCO <sub>3</sub> (mmol/l)	29,6 $\pm$ 3,40	30,10 $\pm$ 3,00	32,25 $\pm$ 1,85	28,0 $\pm$ 3,00*
Valores de electrolitos en sangre arterial	cNa <sup>+</sup> (meq/l)	135,0 $\pm$ 2,00	135,0 $\pm$ 2,00	136,0 $\pm$ 3,00	139,2 $\pm$ 2,70*
	cK <sup>+</sup> (meq/l)	4,0 $\pm$ 0,30	4,2 $\pm$ 0,25	3,9 $\pm$ 0,20	3,0 $\pm$ 1,20**
	cCl <sup>-</sup> (meq/l)	94,0 $\pm$ 5,00	94,5 $\pm$ 4,50	95,0 $\pm$ 5,00	99,0 $\pm$ 3,00**
	cCa <sup>2+</sup> (mmol/l)	1,2 $\pm$ 0,14	1,2 $\pm$ 0,13	1,2 $\pm$ 0,11	1,3 $\pm$ 0,20*
Valores de metabolitos en sangre arterial	cGlu (mg/dl)	90,5 $\pm$ 12,50	92,5 $\pm$ 11,50	90,0 $\pm$ 10,00	40-80**
	cLac (mmol/l)	1,85 $\pm$ 1,25	1,95 $\pm$ 1,45	1,90 $\pm$ 1,10	<5***

Abreviaturas: SaO<sub>2</sub>: saturación de oxígeno en sangre arterial; PaCO<sub>2</sub>: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial; PaO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno en sangre arterial, (T)c: corregido por la temperatura corporal; cHCO<sub>3</sub>: concentración de bicarbonato. PRE-TC: 10 minutos antes de realizar la toracoscopia; cNa<sup>+</sup>: concentración de sodio; cK<sup>+</sup>: concentración de potasio; cCl<sup>-</sup>: concentración de cloro; cCa<sup>2+</sup>: concentración de calcio; cGlu: concentración de glucosa; cLac: concentración de lactato; INTRA-TC: durante la toracoscopia; POS-TC: 10 minutos después de realizar la toracoscopia. Valores de referencia obtenidos en \*(Re, 2012), \*\* (Radostits et al., 2007) y \*\*\* (Buczinski et al., 2015b).

En cuanto a los **parámetros bioquímicos**, los valores de electrolitos y metabolitos en T-1 y T-2 se mantuvieron próximos al rango de referencia (tabla 31), con leves variaciones del ternero T-2: leve disminución de la concentración del sodio (133 meq/l estables antes, durante y después de la toracoscopia), del cloro y del calcio (89, 90 y 90 meq/l de cloro y 0,98, 1,00 y 1,1 meq/l de calcio antes, durante y después de la toracoscopia, respectivamente), Además, se observó una moderada elevación de la concentración de glucosa a lo largo del procedimiento quirúrgico (103,104 y 100mg/dl antes, durante y después de la toracoscopia, respectivamente).

El caso T-3 mostró acidosis leve (pH=7,09) después de la toracoscopia, aunque mantuvo todos los valores de electrolitos dentro del rango de referencia, tanto antes como después de la toracoscopia. Por el contrario, los dos valores relativos a los metabolitos se vieron afectados de manera marcada, especialmente después de la toracoscopia, con un aumento de la concentración de glucosa (102 y 154 mg/dl antes y después de la toracoscopia, respectivamente), y de la concentración de lactato pos-toracoscopia, que se incrementó notablemente, pasando de 2,2 antes de la toracoscopia a 13,8 mmol/l.

### **Resultados serológicos**

En la serología sanguínea se buscaron evidencias de contacto con los principales virus respiratorios, obteniéndose resultados positivos a DVB en T-1 y T-3, y únicamente títulos de positividad dudosa a IBR en T-2 y en cuanto a VRSB, un título dudoso y otro positivo en T-1 y T-3, respectivamente.

### **Resultados de cultivo bacteriológico**

El cultivo bacteriológico ofreció fundamentalmente resultados de crecimientos inespecíficos de bacterias no patógenas obtenidos a partir del tejido de biopsia pulmonar en T-1 o de hisopos nasofaríngeo en T-2 y T-3. También se aisló un crecimiento de bacterias pleomórficas Gram positivas a partir del tejido de biopsia pulmonar de T-2.

Únicamente se aisló una bacteria considerada patógena respiratoria, a partir de un hisopo nasofaríngeo proveniente de T-1, tratándose de un crecimiento positivo a *M. haemolytica*.

### **Resultados de detección de las principales bacterias y virus respiratorios por PCR**

La prueba de PCR para la detección de los principales agentes respiratorios a excepción de *M. bovis*, dio resultados negativos casi en la totalidad de las pruebas realizadas, exceptuando un resultado positivo a *M. haemolytica* a partir de un hisopo nasofaríngeo en T-1, acorde al resultado observado tras cultivo, y un resultado positivo a DVB a partir de fluido de BAL en T-2, resultado en este caso discordante con la negatividad encontrada en la serología frente al virus de la DVB en el ternero T-2.

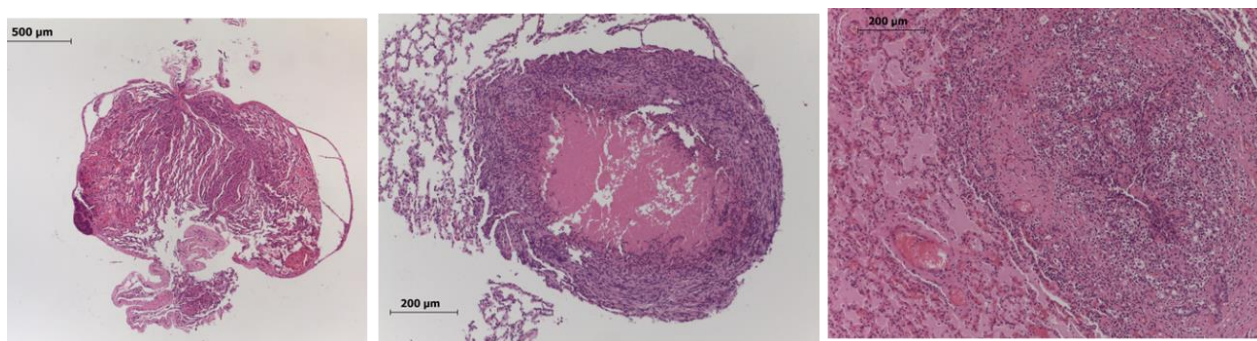
### **Resultados de detección de *M. bovis* por PCR**

Los resultados de la PCR específica para *M. bovis* mostraron una alta positividad a esta bacteria en líneas generales. Particularmente en T-1, se apreció positividad débil en las muestras de biopsia pero positividad clara en los hisopos. En T-2, positividad clara tanto en las biopsias, como en los hisopos y en el BAL. Y en T-3, positividad débil en las biopsias y en los hisopos, y clara positividad en las muestras de necropsia.

## Resultados histopatológicos

De las ocho muestras destinadas al examen histológico una muestra se componía únicamente de pleura visceral, sin presencia de parénquima pulmonar, lo que da lugar a que el 87,5% (7/8) de las muestras de biopsia destinadas al estudio histopatológico resultaran muestras útiles para análisis laboratoriales posteriores. Las conclusiones diagnósticas de estas biopsias fueron las siguientes:

- T-1: neumonía exudativa intensa de carácter purulento con infiltrado de neutrófilos y hemorragias en los alveolos. Pleuritis focal leve y congestión de tabiques alveolares (figura 58, izquierda).
- T-2: nódulo de necrosis por caseificación esférico, delimitado por una cápsula fibrosa con infiltrado linfocitario (figura 58, central).
- T-3: bronquitis crónica intensa, con fibrosis peribronquial acusada, provocando engrosamiento de la pared. Escaso infiltrado inflamatorio linfocitario y presencia de material necrótico en la luz de los bronquios. Atelectasia alveolar presente (figura 58, derecha).



**Figura 58.** Imágenes microscópicas de biopsias de pulmón obtenidas mediante toracoscopia de los lóbulos craneales derechos de los terneros con SRB T-1, T-2 y T-3, de izquierda a derecha, respectivamente. *Descripción de las imágenes en el texto superior. Imagen cedida por Jorge González Fernández (MICROS S.L.).*

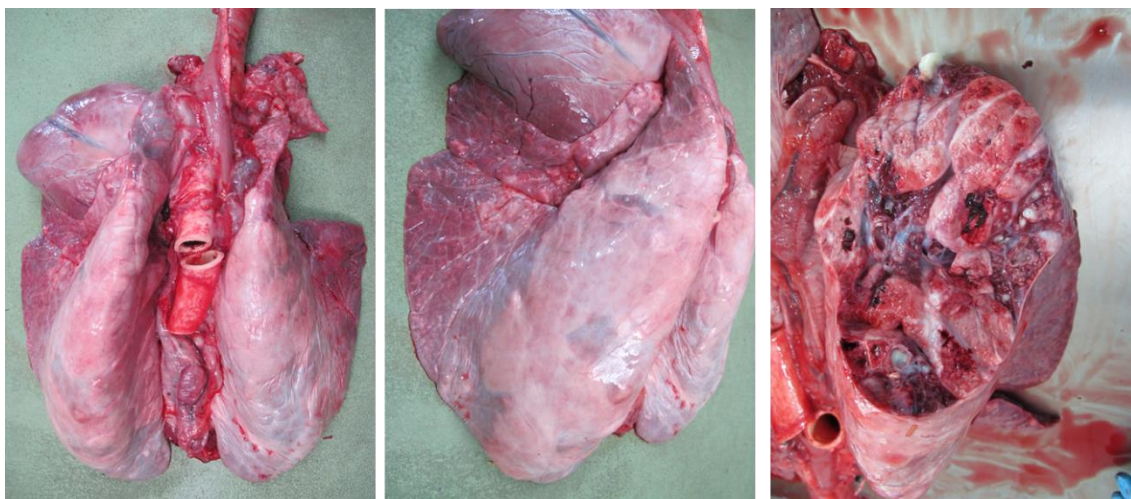
No se observó presencia de bacterias en ninguna de las biopsias analizadas. Las lesiones observadas se consideraron por el patólogo como casos graves a nivel local en su mayoría, aunque especificando que la afectación global del animal dependería de la extensión de pulmón afectado. En los tres casos, el patólogo asoció las lesiones a procesos bacterianos y en el caso de T-2 y T-3, las calificó como de carácter crónico.



### 7.2.5.Resultados de la necropsia

El animal T-3 fue el único al que se practicó la eutanasia e inmediata necropsia, a los tres días de la segunda réplica de toracoscopia, habiendo superando ambos procedimientos satisfactoriamente. El animal mostró a nivel respiratorio un patrón neumónico de diseminación pulmonar de tipo generalizado, afectando a todos los lóbulos, especialmente en las zonas ventrales (figuras 58-59), con apariencia de bronconeumonía caseonecrótica multifocal, más aparente en los lóbulos craneales (figura 58-59), con microabscesos apreciables al corte (figura60), compatibles con neumonía de tipo crónico producida por *M. bovis*.

La información procedente de la histopatología de las muestras de pulmón tomadas por necropsia fue también de bronquitis crónica intensa de carácter crónico, con fibrosis peribronquial.



**Figuras 59 y 60.** Imágenes macroscópicas de necropsia del pulmón de un ternero con SRB crónico de pronóstico fatal eutanasiado, donde se aprecia una mayor afectación de los lóbulos craneales y la parte ventral de los caudales.

**Figura 61.** Imagen macroscópica del corte del lóbulo pulmonar craneal derecho del pulmón de un ternero con SRB crónico de pronóstico fatal eutanasiado, donde se apreciaban microabscesos y focos neumónicos.

*Imágenes cedidas por M<sup>a</sup> Ángeles Jiménez Martínez  
(Servicio de Anatomía Patológica del HCVC)*

### 7.3. DISCUSIÓN

En este estudio hemos podido demostrar, no sólo una alta correlación de la información obtenida mediante la exploración toracoscópica con la obtenida mediante ecografía y con la necropsia, sino una eficacia diagnóstica superior *in vivo*, de esta técnica respecto de la ecografía. Por otro lado, hemos demostrado la gran utilidad diagnóstica de la biopsia pulmonar por vía toracoscópica *in vivo*, aportando información completa y descriptiva de las características de la lesión y del agente causal y corroborando la seguridad, facilidad y rapidez de su ejecución, en terneros enfermos de SRB.

El SRB es una enfermedad que plantea un reto diagnóstico complejo, dada la dificultad del diagnóstico clínico preciso debido a la inespecificidad de los signos clínicos y a la ausencia de un *gold standard* establecido (Buczinski *et al.*, 2014; Leruste *et al.*, 2012; White y Renter, 2009).

En nuestro estudio, observamos que el diagnóstico clínico estuvo muy determinado por la gravedad de la enfermedad, distinguiendo tan sólo el animal más gravemente afectado; siendo, por lo tanto, una información muy limitada, sin ninguna aproximación a los detalles de las posibles lesiones o a la necesidad o conveniencia de un tratamiento antibiótico. Esto ya ha sido observado por otros autores que consideran la exploración clínica como una técnica con una especificidad y una sensibilidad muy limitadas (Leruste *et al.*, 2012).

Por otro lado, tal y como esperábamos, la ecografía aportó información extra sobre la extensión y el tipo de las lesiones, permitiendo concretar con más información el diagnóstico de los procesos, diferenciando la gravedad de los dos terneros calificados como en una misma fase de enfermedad, según la exploración clínica. Como ya se ha citado previamente, la ecografía se considera como una técnica muy eficaz en la detección de la consolidación pulmonar, así como en la determinación de la extensión de las lesiones, tal y como está descrito en la bibliografía (Buczinski *et al.*, 2014; Flöck, 2004; Jung y Bostedt, 2004; Reinhold *et al.*, 2002), aunque no siempre las áreas de consolidación se correspondan con infección pulmonar, sino que puede tratarse de áreas infartadas o atelectasias por otras causas no infecciosas (Andrews y Kennedy, 1997; DeLong *et al.*, 1988).

Por otro lado, y respecto a la descripción de las lesiones evaluadas *in vivo* en los tres terneros enfermos de SRB, la ecografía pulmonar y la toracoscopia mostraron una buena correlación en todos los casos, y también con la necropsia en el único animal sacrificado, que corroboró el diagnóstico inicial presuntivo.

No obstante, la toracoscopia aporta la posibilidad de valorar directamente las lesiones *in vivo*, ofreciendo imágenes extrapolables a las que encontramos en los patrones pulmonares de necropsia, sin necesidad de ser interpretadas por un experto en diagnóstico por imagen entrenado (circunstancia necesaria en el caso de la ecografía; Streeter y Step, 2007), observándose la presencia o ausencia de adherencias y su grosor, de fibrina o petequias (no apreciables por ecografía). De hecho, en base a esta información más detallada de la lesión pulmonar a partir de la toracoscopia, se

consideraron diferentes pronósticos de los terneros T-1 (pronóstico moderado tras toracoscopia y ecografía) y T-2 (pronóstico reservado tras toracoscopia y favorable tras ecografía) y fatal en T-3 para ambas técnicas; además, mediante las imágenes obtenidas por toracoscopia, se pudo indicar la conveniencia o no de tratar a los animales, al distinguir entre neumonías activas y cronicadas. Finalmente, la toracoscopia permitió la toma de muestras *in vivo* de biopsias sobre las que se realizó la batería completa de pruebas para diagnóstico etiológico e histopatológico, batería de análisis que sin toracoscopia es imposible realizar con el animal vivo.

La toracoscopia y la biopsia pulmonar se realizaron en condiciones de seguridad y bienestar animal, previamente conseguidas también en otros casos puntuales descritos en bovinos sanos (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014; Van Biervliet *et al.*, 2006), en otros dos casos clínicos de terneros enfermos (Espinosa-Crespo *et al.*, 2014; Santos López *et al.*, 2015), así como en los estudios de los capítulos segundo y tercero de este documento, aplicado a muchos más animales y también en condiciones de campo.

Una de las principales limitaciones de este estudio es el reducido número de animales utilizado, lo que se justifica, por un lado, por intentar cumplir las premisas del principio de las 3R de Russel (alternativas de reemplazo, reducción y refinamiento; Russell y Urch, 1959), por otro lado, por querer garantizar al máximo el bienestar animal, especialmente en animales enfermos y deber someterles a transporte garantizando. Finalmente, era un estudio que no se podía efectuar en campo, donde hubiéramos podido ampliar el tamaño muestral, ya que el procesado de datos de gasometría y bioquímica sanguínea exigen su inmediato procesado en un laboratorio equipado para tal determinación. No obstante, y a pesar de este reducido tamaño muestral, y que debemos considerar los datos de esta parte experimental con cautela, pudimos ver cómo los valores obtenidos mediante gasometría aportaban información sobre la positiva recuperación de los animales después de la toracoscopia, ratificada con la observación de su recuperación física rápida. Si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por Michaux en vacas sanas (tabla 33); (Michaux *et al.*, 2014), podemos observar que, aunque el punto de partida de nuestros terneros en cuanto a saturación y presión parcial de oxígeno era inferior, probablemente como efecto de la enfermedad respiratoria (Desmecht *et al.*, 1996; Gustin *et al.*, 1988), la recuperación diez minutos después de la toracoscopia fue completa en los dos casos, lo que nos aporta información valiosa sobre la seguridad de la técnica. Además, en este mismo estudio de 2014 (Michaux *et al.*, 2014) se siguió la indicación de suplementar a los animales que bajaran del 95% de saturación (SaO<sub>2</sub>) durante la realización de la técnica, lo que sucedió en todos los animales, mientras que en nuestro estudio ningún animal recibió un aporte extra de oxígeno sin suponer esto un retraso en su recuperación. En nuestra opinión, una posible explicación de porqué se mantiene una saturación más estable en nuestro trabajo, aun tratándose de animales enfermos de SRB y de estar siendo biopsiados, es que en nuestro estudio, a diferencia de los referenciados en la bibliografía, realizamos la técnica de toracoscopia mediante un endoscopio flexible, lo que resulta menos doloroso para los animales, tal y como se demuestra en el capítulo segundo, siendo posible que este estado de menor sensación dolorosa repercuta positivamente en el nivel de oxigenación (Hoiseth *et al.*, 2015). No obstante, son necesarios más estudios con un mayor número de animales para poder hacer afirmaciones concluyentes al respecto.



**Tabla 33.** Comparativa de los valores medios de gasometría obtenidos en dos terneros afectados por SRB antes, durante y después de la toracoscopia con los valores de referencia en las mismas condiciones en vacas sanas descritos por Michaux *et al.*, 2014.

TIPO DE PARÁMETRO	PARÁMETRO	MEDIA PRE-TC ± DE	VALOR REFERENCIA PRE-TC SANOS	MEDIA INTRA-TC ± DE	VALOR REFERENCIA INTRA-TC SANOS	MEDIA POST-TC ± DE	VALOR REFERENCIA POST-TC SANOS
Valores de gases en sangre	pH	7,45±0,07	7,35-7,45	7,46±0,03	7,35-7,45	7,54±0,01	7,35-7,45
	SaO <sub>2</sub> (%)	96,35±1,85	97,5±0,76	92,55±4,45	91,5±3,04	97,45±1,95	97,5±0,96
Valores corregidos por temperatura	PaCO <sub>2</sub> (T)c (mmHg)	44,65±3,45	39,53±5,86	45,30±0,00	40,50±1,42	38,5±3,30	40,77±1,86
	PaO <sub>2</sub> (T)c (mmHg)	79,30±1,00	94,67±6,4	67,85±7,85	60,33±12,64	81,10±8,20	92,83±9,49

Uno de los resultados más llamativos es la marcada elevación del lactato en el ternero más afectado de SRB inmediatamente después de la toracoscopia, que alcanzó valores de hasta 13,8 mmol/l, lo que supone un pronóstico infausto para el animal, ya que en terneros, concentraciones de lactato por encima de 5 mmol/l se consideran indicativas de animal en riesgo (Buczinski *et al.*, 2015b), habiendo incluso autores que determinan que en animales con SRB, por encima de los 4 mmol/l, la esperanza de vida se reduce a las siguientes 24 horas (Coghe *et al.*, 2000). Sin embargo, en nuestro caso, el ternero no murió, sino que fue sacrificado ocho días después de la determinación de la concentración de lactato (tres días después de la segunda toracoscopia), por lo que creemos que la desmesurada elevación podría estar relacionada con la situación de estrés derivada del manejo (Chacon *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2001; Romero Peñuela *et al.*, 2011; Uetake *et al.*, 2009) y remitir posteriormente a valores compatibles con la vida.

Dentro de los resultados de las pruebas de laboratorio, los más llamativos se refieren a la detección de bacterias altamente patógenas, como es el caso de *M. haemolytica*, aislada sólo a partir de hisopos nasofaríngeos y en un solo animal, y el hallazgo de *M. bovis*, aislado en los tres animales a partir de distintos tipos de muestras obtenidas *in vivo*, y en todos los casos desde el tejido obtenido mediante biopsia pulmonar y confirmada *postmortem* en el único animal sacrificado.

Cuando se han estudiado los resultados obtenidos por BAL e hisopos nasales, en comparación con cultivos pulmonares *postmortem*, se ha visto que las muestras de BAL concordaban con los cultivos de necropsia, mientras que los hisopos nasales no (Thomas *et al.*, 2002). En nuestro estudio, el primero en comparar resultados de BAL e hisopos nasofaríngeos con muestras de pulmón de animales vivos, la información de BAL resultó más limitada en la determinación de los agentes causales que los hisopos, que resultaron positivos a *M. bovis* en los tres animales mientras que tan sólo un BAL fue positivo. Pese a que existen estudios que muestran que aislamientos importantes de *M. haemolytica*, *P. multocida* o *M. bovis* a partir de hisopos nasofaríngeos pueden ser un fiel reflejo de la presencia de estos gérmenes en el pulmón (Godinho *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2015), la presencia de crecimiento bacteriano puede denotar simplemente que ha crecido flora que habita en las vías respiratorias altas pero no tiene por qué estar

dando lugar a enfermedad (Allen *et al.*, 1991). Esto es lo que podría haber sucedido en el caso del ternero donde aislamos *M. haemolytica* en los hisopos nasofaríngeos pero no en el pulmón. Además, esta afirmación aporta solidez a la importancia de la determinación etiológica a partir del foco de la lesión, lo que junto con los signos clínicos y la propia lesión constituyen la verdadera prueba diagnóstica de causalidad (Fulton y Confer, 2012), lo cual es posible obtener en animales vivos, únicamente mediante biopsia. El hecho de que algunos de los resultados de *M. bovis* hayan sido cuantificados como débiles no limita el diagnóstico puesto que el pulmón sano es estéril (Dickson *et al.*, 2013), por lo que la presencia de *M. bovis*, aunque en pequeña cantidad, ya es indicativo de patología (Caswell y Archambault, 2007).

En enfermos crónicos es frecuente aislar *M. bovis* como único patógeno o junto a otras bacterias respiratorias (Shahriar *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2010). No obstante, no siempre es fácil determinar el microorganismo causal ni todos los implicados en el proceso, especialmente en animales crónicos y más aún en el caso de bacterias de difícil aislamiento como *M. bovis* o *H. somni* (Griffin *et al.*, 2010). Por ejemplo, en un estudio realizado en ganado de cebo con neumonía crónica, el 10% (5 de 49) fueron IHC negativo para *M. bovis*, *H. somni*, *M. haemolytica* y DVB, de los cuales el 40% (2 de 5) tenía lesiones visibles compatibles con esos gérmenes (Haines *et al.*, 2001). En nuestro estudio, se sospechó de la presencia de *M. bovis* en un caso por ecografía (ternero T-3; 1/3), en dos por toracoscopia (terneros T-2 y T-3; 2/3) y en uno por histopatología (ternero T3; 1/3), confirmándose todos ellos laboratorialmente mediante PCR.

Por otro lado, el porcentaje de biopsias válidas para histopatología en nuestro estudio fue del 87,5%, lo que supone casi el doble del anterior resultado del 47% en animales vivos del tercer capítulo, y superior al 71 % obtenido por Sydler en vacas sanas (Sydler *et al.*, 2004). Además, se sitúa muy próximo al 91% obtenido *posmortem* también en el estudio del tercer capítulo de este trabajo de Tesis Doctoral, lo que demuestra que una mayor experiencia de los endoscopistas eleva sensiblemente la eficacia de su trabajo.

En análisis histopatológico respecto a procesos pulmonares se considera esencial para la caracterización de los procesos neumónicos (Booker *et al.*, 2008; Burgess *et al.*, 2011; Yousem y Faber, 2011), siendo la única manera de diferenciar algunas enfermedades como la neumonía intersticial atípica del bovino (Doster, 2010). Por otro lado, esta información puede ser de gran ayuda a la hora de decidir un tratamiento u otro para los terneros, si se dispusiera de la misma cuando el paciente aún está vivo. En nuestro estudio, la información obtenida a partir de estas muestras resultó definitiva, con datos relativos a la cronicidad de los procesos e incluso sospechándose ya la presencia de *M. bovis* en uno de los casos (el ternero T-3).

Hasta ahora, ha sido difícil obtener muestras de tejido pulmonar en terneros vivos en condiciones de campo, de ahí los distintos estudios, ya referenciados, en la revisión bibliográfica, que demostraban la extracción viable de muestras de pulmón *in vivo* en el bovino (Braun *et al.*, 2000; Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Burgess *et al.*, 2013; Dungworth y Hoare, 1970; Estermann, 1998; Sydler *et al.*, 2004) pero con imposibilidad de acceder a los lóbulos craneales (Burgess 2009). De manera, que con estos resultados anatomopatológicos, la ventaja práctica de la biopsia pulmonar vía

toroscópica, a la hora de decidir el futuro de los terneros con SRB, se refuerza aún más.

De hecho, y recopilando toda la información extraída exclusivamente de la toroscopia se hubiera decidido tratar a los dos primeros terneros y eutanasiar al tercero, decisiones que consideramos acertadas. Así pues, ambos terneros fueron tratados con florfenicol (Nuflor<sup>®</sup>, MSD AH, Boxmeer, Holanda) a dosis 20 mg/kg, IM cada 48 horas, durante los días posteriores y en sus explotaciones de origen una vez regresaron.

Finalmente, con este estudio, hemos observado que, mediante el procedimiento de toroscopia que duró 15 min de media, fuimos capaces de diferenciar *in situ* procesos crónicos de agudos, de dar diagnósticos etiológicos presuntivos muy cercanos al real, de acertar el pronóstico y de extraer tejido pulmonar válido para su análisis microbiológico e histopatológico en tres terneros enfermos de SRB, en condiciones de seguridad y de bienestar animal.

#### **7.4. CONCLUSIONES**

La técnica de biopsia por toroscopia no sólo ha demostrado tener una alta correlación en su eficiencia diagnóstica con la ecografía y con la necropsia, sino que además permite tomar muestras *in vivo* de biopsia pulmonar válidas para su análisis microbiológico e histopatológico. Estas muestras fueron, dentro de la comparativa diagnóstica, las que aportaron una información más completa y descriptiva tanto de las características íntimas de la lesión, como sobre los agentes causales de la misma, siendo posible diagnosticar a partir de éstas incluso agentes de difícil asilamiento como *M. bovis*. Se requiere de un mayor número de animales a estudiar para consolidar los conocimientos adquiridos en la eficiencia diagnóstica y pronóstica de esta técnica y poder estandarizar su indicación en condiciones de campo.

## **DISCUSIÓN GLOBAL**



## 8. DISCUSIÓN GLOBAL DE RESULTADOS

El objetivo general del trabajo experimental correspondiente a esta Tesis Doctoral consistía en reducir el impacto negativo del SRB en los cebaderos de terneros mediante la implementación de técnicas diagnósticas válidas para detectar de manera precoz los animales con mayor riesgo de padecer SRB a nivel de rebaño (temperatura rectal y su punto de corte para detectar animales en riesgo), y mediante el diagnóstico etiológico veraz a nivel individual describiendo el patrón pulmonar, *in vivo*, (aplicación de la toracoscopia diagnóstica y la biopsia toracoscópica).

Este objetivo tiene una gran importancia en investigación aplicada ya que el SRB se considera la patología con mayor repercusión económica en la industria del bovino de carne (Ackermann *et al.*, 2010; Edward, 1996; Edwards, 2010; Smith, 1998; Wittum *et al.*, 1996), con unos costes difíciles de cuantificar, pero que podrían suponer alrededor del 7% del total de los costes de producción desde el destete de los terneros hasta su venta para sacrificio (Griffin, 1997). Además, su incidencia se ha mantenido estable durante los últimos veinte años pese a los esfuerzos en controlar la enfermedad (Miles, 2009; Patrick, 2009), lo que nos lleva a pensar que, a día de hoy, debemos aprender a convivir con ella; por ello, todo esfuerzo centrado en minimizar sus efectos se ve justificado.

Esta enfermedad se produce con mayor frecuencia en terneros recién llegados al cebadero (Callan y Garry, 2002; Miles, 2009; Sañudo *et al.*, 2008), independiente del sistema específico de cebo (mamones, pasteros o temera blanca; ver revisión bibliográfica pp. 10-11), pudiendo alcanzar hasta un 80% de morbilidad y un 50% de mortalidad en el cebo de pasteros (Edward, 1996; Loneragan *et al.*, 2001; Wittum *et al.*, 1996), por lo que es importante focalizar los esfuerzos en este momento del ciclo productivo. En la producción de cebo de terneros pasteros, es frecuente detectar tarde a los animales con SRB (Timsit *et al.*, 2011), por lo que los protocolos preventivos o metafilácticos a aplicar a la entrada de los animales al cebadero, así como los protocolos que faciliten diagnósticos precoces, son muy importantes ya que, junto con el estado inicial de los terneros y el manejo en el momento de la entrada, marcarán los datos de mortalidad final del lote, y por lo tanto y en gran medida, su rentabilidad (Snowder, 2006). La disponibilidad de técnicas diagnósticas eficaces y precoces, tanto a nivel de rebaño como a nivel individual facilitaría la reducción de las tasas de recaída, crónicos y mortalidad (Wolfger *et al.*, 2015) y, por tanto, de consumo de fármacos antimicrobianos (Theurer *et al.*, 2015). Estos mismos objetivos son los de la metafilaxia parcial o selectiva, reduciendo el uso de antibióticos a partir de distintos criterios de diagnóstico precoz, como fueron los casos de estudios puntuales de medición de temperatura (Galyean *et al.*, 1995; Vogel *et al.*, 1998) o de otros indicadores, como el lactato en sangre (Buczinski *et al.*, 2015b).

Como ya hemos comentado, dentro de las técnicas diagnósticas de mayor innovación encontramos la endoscopia; dentro de esta técnica, la broncoscopia es la aplicación más utilizada en la observación del aparato respiratorio en grandes animales y, especialmente, en el ganado equino (Cook, 1970; Dixon, 1997; Dixon *et al.*, 1995). A día de hoy, la toracoscopia es una técnica poco frecuente en grandes animales, con

más frecuente aplicación en caballos (Peroni *et al.*, 2001; Relave *et al.*, 2010, 2008) y menor en vacas adultas y sanas (Michaux *et al.*, 2014; Scharner *et al.*, 2014). Sin embargo, no existen trabajos en terneros enfermos de SRB hasta la fecha, pese a su gran potencial diagnóstico, pese a la posibilidad que ofrece de exploración directa y pese a la posibilidad de toma de muestras de biopsia *in vivo*.

Existen trabajos que señalan el interés de la disponibilidad de métodos de biopsia eficaz en el ganado vacuno *in vivo*; bien valorando la toracotomía, aunque sin buenos resultados (Anderson y St. Jean, 2008; Ducharme *et al.*, 1999); bien mediante biopsia percutánea, con resultados dispares (Braun *et al.*, 2000; Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Burgess *et al.*, 2013; Dungworth y Hoare, 1970; Estermann, 1998; Sydler *et al.*, 2004).

Todas estas consideraciones nos llevaron al planteamiento del presente desarrollo experimental, comenzando, en primer lugar, por la identificación de los grupos de riesgo a la entrada al cebadero, mediante una técnica fácil y objetiva como es la determinación de temperatura rectal. Con ello, se abordaba el objetivo específico de determinación del punto de corte de temperatura  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  como identificador de animales de mayor riesgo y su validación mediante la aplicación de metafilaxia parcial y evaluación del resultado de la enfermedad posterior en cebaderos comerciales. Nuestra hipótesis se basaba en que, si el criterio de diagnóstico precoz de SRB elegido era válido, los resultados de salud y productividad posteriores en los grupos de terneros comparados (metafilaxia al 100% de los animales y metafilaxia a los animales con temperatura rectal de  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ) serían similares.

Los resultados obtenidos indicaron que de todos los signos clínicos valorados, efectivamente, sólo la temperatura rectal, con un punto de corte  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ , resultó tener valor diagnóstico útil (Se=92% y Es=20%;  $P=0,02$ ) para predecir futuros casos de SRB. Y del mismo modo, tampoco se encontraron diferencias significativas en los resultados de salud y productivos entre la metafilaxia en masa o parcial en base a este punto de corte de temperatura.

En nuestro estudio hemos observado una eficacia diagnóstica similar a la obtenida por termografía (70,4 vs. 71%, respectivamente; Schaefer *et al.*, 2007), pero debemos señalar que nuestra metodología es, obviamente, más económica y accesible y, lo que es aún más importante, es aplicable por parte de los trabajadores del cebadero. Esta característica hace que permita una manera fácil y segura de racionalizar el consumo de antibióticos en los cebaderos.

Otro frente que quisimos abordar dentro del SRB en cebadero, enmarcado en este trabajo de Tesis Doctoral, fue desarrollar una técnica diagnóstica eficaz y precoz, a nivel individual, para aplicarla a aquellos terneros ya enfermos. Enfrentados a un ternero en concreto, es de relevancia diferenciar de manera rápida la fase de SRB en la que se encuentra el animal (al menos si se trata de fases agudas o crónicas), poder hacer diagnósticos presuntivos sobre la etiología más específica o predominante (para adaptar posibles terapias), y finalmente, acercarnos a un valor pronóstico más acertado que el que nos proporciona a día de hoy la exploración clínica (Branscum *et al.*, 2005). En base a esto, y con la premisa de que la toracoscopia es una técnica con

grandes posibilidades como método de diagnóstico, se abordaron los objetivos relacionados con la demostración de la idoneidad e inocuidad de la técnica de toracoscopia en el diagnóstico de SRB en terneros enfermos y en condiciones de campo, así como la determinación del protocolo óptimo de la técnica toracoscópica de exploración pulmonar en estas condiciones. Esta valoración se llevó a cabo mediante dos experimentos que demostraron por primera vez que la toracoscopia es una técnica diagnóstica y pronóstica segura, válida y factible en terneros enfermos en condiciones de campo, y compatible con el bienestar de los animales. En segundo lugar, y tras el estudio comparativo de diferentes tipos de equipamiento, los resultados nos permitieron concluir que el uso de endoscopios flexibles a través de un abordaje alto (dorso-caudal en el quinto espacio intercostal) con el animal en estación, anestesiado únicamente a nivel local, resulta la combinación apropiada en términos de bienestar animal, posibilidad de ejecución en condiciones de campo y resultados de eficacia diagnóstica.

Con este estudio pudimos valorar cómo esta técnica permite la exploración completa de los pulmones en 15 minutos, y posibilita la diferenciación de las lesiones pulmonares crónicas y agudas, así como la observación de adherencias en terneros vivos con SRB, sin poner en peligro el bienestar animal ni su salud. Una vez demostrado esto, descrito el equipo ideal, y el lugar de abordaje óptimo, creímos de gran interés el estudio de nuevas aplicaciones de esta técnica en el ganado, dado su gran potencial y versatilidad. Son varios los estudios donde más del 60% de los pulmones de los terneros que mueren debido a neumonías bacterianas contenía más de una especie de bacterias potencialmente patógenas (Booker *et al.*, 2008; Gagea *et al.*, 2006; Panciera y Confer, 2010). Por lo tanto, los resultados de las técnicas de diagnóstico etiológico a partir de pulmones de necropsia, podrían no estar dándonos una información fiable del rol específico de cada patógeno (Panciera y Confer, 2010), probablemente, porque llegamos demasiado tarde para comprender la patogenia íntima del proceso. La imposibilidad de realizar un seguimiento de las lesiones *in vivo* en los animales no nos ha permitido tener esta información disponible; pero la toracoscopia podría ser la herramienta más adecuada para obtener muestras mediante biopsia que nos aclaren algunas de estas cuestiones. Por lo tanto, nos planteamos que si trabajábamos con equipos de endoscopio flexible que permiten, como hemos demostrado, el acceso a todo el pulmón, podríamos mapearlo de manera secuencial, y además, tomar muestras de biopsia pulmonar para determinar la causa etiológica específica de las lesiones concretas en, incluso, cada fase de la enfermedad, pudiendo establecer así la cronología de las lesiones.

Tal y como comentamos inicialmente, la única técnica de biopsia pulmonar desarrollada en el ganado vacuno es la biopsia percutánea, además de una única descripción de biopsia pulmonar transbronquial mediante broncoscopia en condiciones experimentales (Prohl *et al.*, 2014). A pesar de todo, la utilidad diagnóstica específica para el SRB no pudo ser demostrada mediante las técnicas descritas (Brandy, 2013), y tampoco se han realizado estudios pormenorizados que analicen posibles factores que puedan explicar resultados tan dispares. Por este motivo, nuestro siguiente objetivo consistió en la estimación de la viabilidad de muestras de tejido pulmonar obtenidas mediante biopsia toracoscópica (BT) y la evaluación de la influencia de factores específicos sobre la calidad de dichas muestras. Para ello, en una primera fase



trabajamos con pulmones *postmortem* y posteriormente, en terneros de cebo enfermos de SRB y en condiciones de campo.

Dado que no existe información concreta disponible al respecto de la técnica y aplicabilidad de la BT en el bovino, también era fundamental determinar la viabilidad diagnóstica de las muestras obtenidas. Por tanto nos preguntábamos si realmente seríamos capaces de obtener información útil para el diagnóstico de SRB a partir del material obtenido mediante BT. De este modo, tal y como se describe en el trabajo descrito en el capítulo 3, obtuvimos en todos los casos, al menos, una muestra válida para su posterior estudio analítico, con resultados muy superiores en los muestreos *postmortem* en comparación, respecto de los obtenidos en animales vivos (91 vs. 47%, respectivamente). Este hecho era esperable, ya que el trabajo sobre el pulmón *postmortem* se puede realizar de manera más cómoda y estandarizada. Además, dado que la técnica es novedosa, el equipo de endoscopistas, a pesar de tener experiencia en otros tipos de endoscopia, no lo tenía en la toma de muestras vía toracoscópica en terneros, y sabemos que una mayor experiencia en cualquier técnica que requiera habilidad mejora mucho la eficiencia. De hecho, en la actualidad, y tras un número aún mayor de exploraciones toracoscópicas efectuadas, con biopsia, la eficiencia de obtención de muestras válidas se ha elevado notablemente (datos no publicados).

No obstante, las muestras de tejido pulmonar obtenidas fueron más pequeñas que las referenciadas en otros estudios de biopsia percutánea en ganado vacuno (Braun *et al.*, 2000; Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Burgess *et al.*, 2013; Dungworth y Hoare, 1970; Estermann, 1998; Sydler *et al.*, 2004), aunque igualmente válidas para mejorar nuestra capacidad diagnóstica del SRB.

En estudios realizados en medicina humana, se señala que el tamaño de la muestra podría constituir la mayor limitación para el desarrollo del potencial diagnóstico de la BT (Callejas Pérez *et al.*, 1995), aunque siempre se asocia el pequeño tamaño a la pérdida de parénquima; lo que hace suponer que la verdadera limitación es, en realidad, la presencia o ausencia de parénquima pulmonar. Por su parte, muchos estudios veterinarios han demostrado que las técnicas de biopsia de pulmón en el ganado vacuno en las que se recupera tejido pulmonar son adecuadas para la histopatología (Burgess, 2009), pero esta información se refiere únicamente a biopsias percutáneas (Braun *et al.*, 2000; Braun *et al.*, 1999; Burgess *et al.*, 2011; Burgess *et al.*, 2013; Dungworth y Hoare, 1970; Estermann, 1998; Sydler *et al.*, 2004). La información disponible hasta la fecha en animales sometidos a BT se ha llevado a cabo fundamentalmente en perros (Faunt *et al.*, 1998; Rivera Barreno *et al.*, 2004), con excelentes resultados para el diagnóstico histopatológico gracias a la presencia de parénquima pulmonar en el 100% de las muestras. Del mismo modo, en un estudio realizado en caballos, también se obtuvo un 100% de muestras con parénquima pulmonar, válidas por tanto para la histopatología (Relave *et al.*, 2010). Si bien es cierto, que en estos estudios hablamos de muestras de incluso varios centímetros, mientras que los broncoscopios flexibles no permiten este tamaño en los muestreos. Los endoscopios flexibles o broncoscopios están clasificados por el diámetro del extremo distal, y están disponibles en tamaños que van de 2,5 a 10 mm, aunque en medicina veterinaria, el broncoscopio estándar es de aproximadamente 5 mm de diámetro. Los endoscopios flexibles tienen como ventaja la flexión direccional en dos o

cuatro direcciones y una muesca que indica la cara dorsal de la punta, que es visible para proporcionar orientación al plano de flexión, además de una reducción significativa del dolor en los terneros en comparación con los endoscopios rígidos, según nuestros resultados. Otra de las ventajas de estos endoscopios es el canal de trabajo del broncoscopio, que puede ser utilizado para suministrar oxígeno durante todo el procedimiento, realizar un lavado bronquioalveolar, u obtener biopsias o *brushing* de las vías respiratorias (Johnson, 2001).

Como desventaja, al tener un diámetro más pequeño limitan el tamaño de la biopsia. En general, es preferible un canal de biopsia mayor de 2 mm de diámetro para la obtención de un tamaño adecuado de las muestras de biopsia (Johnson, 2001), pero no teníamos referencias manifiestas de que este tamaño de muestra aportara información diagnóstica de interés (asumiendo que presentara parénquima pulmonar). Además, dado el avance en el manejo de las muestras más pequeñas, también a nivel de laboratorio, cabe esperar la optimización del procesado de las biopsias como es el caso del procesado específico de muestras de pulmón de terneros descrito por Brodersen y Kelling (Brodersen y Kelling, 1996), los cuales trabajaban con biopsias de 2-3 mm. En nuestro estudio, el porcentaje de muestras con tejido pulmonar, y por tanto válidas para diagnóstico fue del 91% en animales muertos y del 47% en vivos, pese a tener tamaños similares en torno a los 2 mm.

Conscientes de la limitación del tamaño global de la muestra a biopsiar vía toracoscópica y sabiendo que, tanto el estudio histopatológico como microbiológico de las muestras depende en gran medida de que las muestras obtenidas contengan tejido pulmonar de tipo parenquimatoso y no sólo pleural, consideramos que un mayor conocimiento de la pleura visceral del bovino supondría una gran ayuda para la valoración de la viabilidad de la técnica de BT, mediante una pinza de biopsia manejada mediante broncoscopios con canales de trabajo de reducido tamaño. De hecho, encontramos diferencias en el tamaño de la pleura entre los lóbulos craneales y los caudales, siendo la pleura de estos últimos más gruesa, lo que posiblemente originara que las muestras de los lóbulos craneales presentaran significativamente una mayor superficie de parénquima pulmonar analizable. Del mismo modo vimos cómo las hembras y los animales de menos peso mostraban una tendencia a un menor grosor pleural, lo que nos orienta en las indicaciones para optimizar el número de muestras válidas y en la capacidad diagnóstica de esta metodología según las características del paciente. Como apoyo a esta información, pudimos evidenciar que la estimación macroscópica de la presencia o no de tejido pulmonar por parte del endoscopista en base a la presencia de color rosado en las muestras de biopsia, resultó ser un indicador adecuado de viabilidad de la muestra ( $Se=97,2\%$  y  $Es=71,4\%$ ; valor  $k=0,687$  y  $P<0,0001$ ), por lo que valoramos que este conocimiento, sumado a un mayor entrenamiento en el procedimiento, dará lugar a mejores resultados en la viabilidad de muestras en animales vivos en las siguientes fases experimentales. En caso de no observar material rosáceo se debe decidir repetir la biopsia en la misma sesión toracoscópica, lo que eleva mucho las posibilidades de éxito final. De hecho, se obtuvo ya una mayor eficacia en la viabilidad diagnóstica de las muestras durante la siguiente fase experimental (capítulo 4), manteniéndose en la actualidad (datos no publicados).

Otra de las limitaciones de la técnica que pudimos comprobar, además del tamaño y el porcentaje de viabilidad de muestras, fue la presencia de adherencias completas, en cuyo caso resulta imposible tanto la exploración completa, como la toma de biopsias dirigida, aunque si bien es cierto que este dato de presencia de adherencias, ya nos da una información pronóstica de gravedad del animal en sí.

En resumen, y en base a esta información, establecimos que tendremos máxima probabilidad de obtener muestras viables si biopsiamos animales sin adherencias completas, en los lóbulos craneales y especialmente en hembras de peso vivo <250kg, por tener un menor grosor pleural, así como si las muestras obtenidas tienen un punteado rosáceo apreciable macroscópicamente (figura 62).



**Figura 62.** Muestra de biopsia pulmonar obtenida de un ternero mediante toracoscopia con un punteado rosáceo apreciable macroscópicamente.

En la última fase experimental de este trabajo de Tesis Doctoral, que constituye el capítulo 4, decidimos evaluar la capacidad diagnóstica de la toracoscopia y la BT para el SRB con las condiciones establecidas previamente, comparando la información obtenida mediante la técnica que hemos desarrollado con la de otras técnicas diagnósticas de uso frecuente en animales vivos con SRB. Además, y dado que algunas de las bacterias emergentes en el SRB son de difícil aislamiento, como es el caso de *M. bovis* o *H. somni* (Woolums, 2015), seleccionamos una población diana de animales enfermos de SRB, donde fuera más probable la presencia de *M. bovis*. Este patógeno es de gran interés debido a su creciente incidencia en el ganado de cebo y su complicado diagnóstico *in vivo* (Caswell y Archambault, 2007; Haines *et al.*, 2001; Panciera y Confer, 2010; Thomas *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos demostraron no sólo una alta correlación de la información obtenida mediante la exploración toracoscópica con la obtenida mediante ecografía y con la necropsia, sino una eficacia diagnóstica superior *in vivo* (permitió afinar aún más en el diagnóstico de la fase de los procesos de SRB de cada animal), de esta técnica respecto de la ecografía. Por otro lado, demostramos la gran utilidad diagnóstica de la biopsia pulmonar por vía toracoscópica *in vivo*, aportando información completa y descriptiva de las características de la lesión por histopatología y del agente causal, especialmente mediante PCR, corroborando además, la seguridad de la técnica mediante los resultados de gasometría en terneros enfermos de SRB.

Asimismo, la aplicación de la toracoscopia mejoró sensiblemente el porcentaje de muestras válidas para su estudio histopatológico a partir de animales vivos (87,5%), obteniendo así una información valiosa sobre el estado sanitario de los animales y demostrando nuestra sospecha en la fase experimental anterior de que se requería cierto entrenamiento para la optimización de la técnica.

Además de la validez histológica de las muestras de biopsia, consideramos muy importante el potencial diagnóstico de las mismas mediante técnicas de diagnóstico etiológico. El único estudio en ganado vacuno en el que se dan datos de diagnóstico etiológico a partir de biopsias, aunque de tipo percutáneo, mostró un único resultado de 295 muestras con la identificación del agente bacteriano y se halló un bajo porcentaje de lesiones identificadas mediante histopatología (20/210), siendo mayor en los animales control tipificados como sanos que en los enfermos (30 y 17,9%, respectivamente; Burgess *et al.*, 2013). En nuestro estudio, aunque con un número muy inferior de animales, obtuvimos información histopatológica sobre las lesiones e identificación etiológica de los agentes causales en el 100% de los casos, aun tratándose de bacterias de difícil aislamiento (*M. bovis*). Estas marcadas diferencias



podrían deberse, según nuestra opinión, a que en dicho estudio de 2013 las muestras de biopsia obtenidas en las áreas más ventrales (74%) provenían de los lóbulos medios y no de los craneales, los cuales son los más representativos de la enfermedad respiratoria de los bovinos (Epperson, 2003) y a los cuales tenemos fácil acceso mediante BT, con la posibilidad de elegir la zona exacta a biopsiar (figura 63).

**Figura 63.** Imagen del momento de la toma de biopsia pulmonar por toracoscopia obtenida de un ternero con SRB.

Por último, no sólo podemos afirmar que es posible acceder a los lóbulos craneales (vídeo 8), para la realización de la BT, así como a los caudales, con un único abordaje (vídeo 9), sino que además, el propio procedimiento de biopsia produce unas secuelas mínimas, como pudimos comprobar en la segunda réplica experimental, tan sólo cinco días después de la primera biopsia (figura 64) observándose exclusivamente petequias y restos de pequeñas hemorragias, sin presencia de fibrina ni tejido necrótico.

**Videos 8 y 9.** Momento de la toma de biopsia pulmonar en el lóbulo craneal (vídeo 8: [www.veton-line.com/Tesis/V8-biopsia I.craneales.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/V8-biopsia%20I.craneales.mp4)) y en el lóbulo caudal (vídeo 9: [www.veton-line.com/Tesis/Biopsia L-Caudal.mp4](http://www.veton-line.com/Tesis/Biopsia%20L-Caudal.mp4)) de un ternero con SRB mediante toracoscopia.



**Figura 64.** Imagen de las secuelas producidas por una toma de biopsia pulmonar por toracoscopia obtenida de un ternero con SRB cinco días antes, donde se pueden observar restos de pequeñas hemorragias.

Por otro lado, a la información inmediata que obtenemos mediante la exploración por toracoscopia para decidir sobre la idoneidad de mantener o instaurar un tratamiento, podemos sumarle la posibilidad de realizar un antibiograma que nos dé información exacta de la sensibilidad de los agentes causales. Hasta la fecha, los antibiogramas influyen en la toma de decisiones de manera moderada, dado que generalmente se llevan a cabo a partir de muestras de necropsia que pueden no ser representativas para el resto del rebaño (Taylor *et al.*, 2010), aunque es cierto que proporcionan una mayor expectativa de eficacia para las bacterias aisladas (Lubbers y Turnidge, 2015). Los antibiogramas sobre muestras tomadas *in vivo* de animales serán de mayor utilidad y más representativos de la eficacia de los mismos en los lotes de cebadero a tratar, lo que mejorará, de nuevo, la eficacia y el uso racional de antibióticos.

En definitiva, con este trabajo de Tesis Doctoral, queda demostrada la posibilidad de la aplicación de metafilaxia selectiva basada en la temperatura rectal en los animales  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  a la entrada al cebadero. Estos resultados ofrecen herramientas aplicables en el campo para, por un lado, localizar los grupos de terneros de los cebaderos con mayor riesgo de desarrollar SRB; lo que de manera directa nos permite reducir el uso metafiláctico de antibióticos a la entrada de los mismos. Por otro lado, permite extremar el control sobre este grupo; lo que reduce la incidencia general de SRB en los lotes. Además, una vez detectados animales clínicamente enfermos de SRB, con la metodología diagnóstica propuesta en este trabajo (toracoscopia exploratoria y toma de biopsia pulmonar por vía toracoscópica) podemos obtener información a tiempo real, manteniendo el bienestar animal y en condiciones de campo, sobre la extensión y características del proceso, así como muestras de tejido pulmonar que nos aporten información histopatológica y etiológica identificando los agentes causales (susceptibles de someterse a un antibiograma). De esta manera aseguramos la causalidad del germen pudiendo elegir el antimicrobiano óptimo para el tratamiento o bien la conveniencia del sacrificio del animal. Este procedimiento bien ejecutado repercutiría en un menor número de tratamientos, tanto a nivel individual como de rebaño, lo que vuelve a redundar en un uso más eficaz y responsable de los antibióticos, así como en una mejora de la eficiencia productiva del cebadero. Además, todo esto dará lugar a una mayor aceptación social de este tipo de sistemas productivos, cada vez más cuestionados en nuestra sociedad.

Finalmente, esta metodología constituye una herramienta de gran interés no sólo para aplicaciones de tipo diagnóstico y pronóstico en animales enfermos en los cebaderos comerciales, sino para evidenciar la patogenia y la evolución de las lesiones y dar un nuevo soporte en los estudios preclínicos, los ensayos clínicos y la farmacovigilancia, así como darnos información sobre la concentración antibiótica en diferentes áreas pulmonares en animales vivos y en diferentes estadios de la enfermedad. Por lo tanto, este trabajo de Tesis Doctoral puede sentar las bases de futuros estudios en esta línea de investigación.

## **CONCLUSIONES GLOBALES**



## 9. CONCLUSIONES GLOBALES

1. El punto de corte de temperatura corporal para la detección de terneros en alto riesgo de sufrir SRB a la entrada en el cebadero se estableció en  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ , con una sensibilidad del 92% y una especificidad del 20%.
2. Aplicando este punto de corte de temperatura rectal de  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$  como criterio para metafilaxia selectiva con antibiótico a la entrada al cebadero, se alcanzan los mismos resultados productivos (mismo índice de ganancia media diaria de peso, de conversión y porcentaje de rendimiento a la canal) y de salud [semejante incidencia de SRB (24,6% vs. 28,1%), de recaídas (24,6 vs. 31,3%), y porcentaje de pulmones con lesiones (38,6% vs. 36,4%;)] que con la metafilaxia en masa.
3. La técnica de toracoscopia en terneros enfermos y en condiciones de campo resulta ser una técnica útil, idónea e inocua para el diagnóstico de SRB, respetando el bienestar animal de los animales.
4. El protocolo óptimo de la técnica toracoscópica de exploración pulmonar en terneros de cebadero enfermos de SRB consiste en la utilización de endoscopio flexible, introducción del mismo con el animal en estación (sin anestesia general) mediante abordaje en el tercio superior del tórax, entre los cuarto y sexto espacios intercostales en sentido caudo-craneal (o séptimo y noveno cráneo-caudalmente), en el hemitórax derecho, sin necesidad de extracción de aire intratorácico ni insuflación de  $\text{CO}_2$ .
5. La biopsia pulmonar en terneros, por vía toracoscópica con broncoscopio con canal de trabajo menor de 6mm, da lugar a un porcentaje de obtención de muestras válidas del 91,25% en pulmones *postmortem* y del 46,67% en terneros *in vivo*, obteniéndose en todos los casos al menos una muestra válida para análisis laboratoriales posteriores.
6. La pleura visceral en el bovino resultó tener mayor grosor en los lóbulos caudales que en los craneales. La raza y edad del ternero no influyeron significativamente en el tamaño de pleura, pero sí se observó una tendencia significativa a un mayor grosor pleural en los machos vs. hembras y una mayor superficie pleural en los animales de peso de  $\geq 250\text{kg}$ .
7. Los factores específicos determinantes de la validez de las muestras y del porcentaje de muestras válidas obtenidas fueron el grosor de la pleura visceral y la superficie de parénquima pulmonar, la presencia o ausencia de adherencias completas, el lóbulo pulmonar biopsiado (craneal vs. caudal), el peso vivo de los animales (mayor o menor de 250 kg), y su sexo, además de la experiencia de los endoscopistas.
8. La estimación macroscópica realizada por parte del endoscopista de la probable presencia de tejido pulmonar en base al punteado rosáceo de la muestra resultó ser útil para prever la presencia real posterior de tejido pulmonar en la biopsia ( $\text{Se}= 97,2\%$ ;  $\text{Es}=71,4\%$ ; valor  $\kappa=0,687$  y  $P<0,0001$ ).
9. El protocolo óptimo de biopsia pulmonar mediante toracoscopia en terneros de cebo y en condiciones de campo con mayor probabilidad de obtener muestras viables se basa en biopsiar animales sin adherencias completas,



en los lóbulos craneales y seleccionando las muestras que exhiban un punteado rosáceo apreciable macroscópicamente.

10. La toracoscopia exploratoria en terneros de cebo enfermos de SRB permite de manera inmediata y en el animal *in vivo*, diferenciar procesos agudos de crónicos, el diagnóstico presuntivo del agente etiológico específico y/o predominante y un pronóstico más acertado, respecto de la ecografía y la exploración clínica.
11. La biopsia pulmonar vía toracoscópica en terneros de cebo enfermos de SRB permite el aporte de información histopatológica exacta de la lesión pulmonar, así como de información etiológica específica y con mejores resultados que las técnicas analíticas aplicadas sobre otros tipos de muestras biológicas rutinarias para el diagnóstico de SRB.

## **BIBLIOGRAFÍA**



## 10. **BIBLIOGRAFÍA**

- Aberle, D.R., Gamsu, G., Golden, J.A., 1987. Fatal systemic arterial air embolism following lung needle aspiration. *Radiology* 165, 351–353.
- Abutarbush S.M, Pollock CM, Wildman B.K, Perrett T., Schunicht O.C., Fenton R.K., Hannon SJ, Vogstad AR, Jim GK, Booker CW., 2012. Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease. *Can J Vet Res* 76, 23–32.
- Acero Adámez, P., Muñoz Muñoz, H., Cedrún del Agua, N., 2009. Planificación y manejo de la explotación de vacuno de carne. Consejería de Agricultura de Valladolid.
- Ackermann, M.R., Derscheid, R., Roth, J.A., 2010. Innate Immunology of Bovine Respiratory Disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 215–228.
- Adamiak, Z., Holak, P., Piorek, A., 2008. Thoracoscopic biopsy of lung tumors using a Roeder's loop in dogs. *Pol. J. Vet. Sci.* 11, 75–77.
- Adams, V.J., 2003. *Veterinary Epidemiology*: Margaret R. Slater (Ed.); Butterworth Heinemann, March 2003, 240 pages, 25 illustrations, paperback, ISBN 0750673117, £ 23.99. *Prev. Vet. Med.* 60, 263–264.
- Agarwal, R., Aggarwal, A.N., Gupta, D., 2013. Diagnostic accuracy and safety of semirigid thoracoscopy in exudative pleural effusions: a meta-analysis. *Chest* 144, 1857–1867.
- Agarwal, R., Khan, A., Aggarwal, A.N., Gupta, D., 2012. Bronchoscopic lung biopsy using noninvasive ventilatory support: case series and review of literature of NIV-assisted bronchoscopy. *Respir. Care* 57, 1927–1936.
- Aich, P., Babiuk, L.A., Potter, A., Griebel, P., 2009. Biomarkers for prediction of bovine respiratory disease outcome. *OMICS* 13, 199–209.
- Allen, J., Viel, L., Bateman, KG, Rosendal, S, Shewen, PE, Physick-Sheard, P, 1991. The Microbial Flora of the Respiratory Tract in Feedlot Calves: Associations between Nasopharyngeal and Bronchoalveolar Lavage Cultures. *Can J Vet Res* 55, 341–346.
- Aly, S.S., Love, W.J., Williams, D.R., Lehenbauer, T.W., Van Eenennaam, A., Drake, C., Kass, P.H., Farver, T.B., 2014. Agreement between bovine respiratory disease scoring systems for pre-weaned dairy calves. *Anim. Health Res. Rev.* 15, 148–150.
- Ames, T., 1993. The epidemiology of BRSV infection. *Vet Med Sci* 13, 881–885.
- Anderson, D., DeBowes, R., Gaughan, R., Yvorchuk E, Guy J, 1994. Endoscopic evaluation of the nasopharynx, pharynx and larynx of Jersey cows. *Am. J. Vet. Res.* 55, 901–904.
- Anderson, D.E., St. Jean, G., 2008. Surgical Procedures of the Thorax. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24, 501–510. doi:10.1016/j.cvfa.2008.07.004
- Anderson, D.E., St Jean, G., Gaughan, E.M., Yvorchuk, K.E., DeBowes, R.M., 1994. Persistent dorsal displacement of the soft palate in two young bulls. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 1071–1074.
- Andrews, G.A., Kennedy, G.A., 1997. Respiratory diagnostic pathology. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 13, 515–547.
- Angen, O., Thomsen, J., Larsen, L.E., Larsen, J., Kokotovic, B., Heegaard, P.M.H., Enemark, J.M.D., 2009. Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Vet. Microbiol.* 137, 165–171.
- Apley, M., 2006. Bovine Respiratory Disease: Pathogenesis, Clinical Signs, and Treatment in Lightweight Calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pr.* 22, 399–411.

- Arthington, J.D., Eicher, S.D., Kunkle WE, Martin F.G., 2003. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J Anim Sci* 81, 1120–5.
- Asano, F., Aoe, M., Ohsaki, Y., Okada, Y., Sasada, S., Sato, S., Suzuki, E., Senba, H., Fujino, S., Ohmori, K., 2012. Deaths and complications associated with respiratory endoscopy: a survey by the Japan Society for Respiratory Endoscopy in 2010. *Respirol. Carlton Vic* 17, 478–485.
- ASOPROVAC, 2015. Estadísticas y precios. <http://www.asoprovac.com>
- Babkine, M., Blond, L., 2009. Ultrasonography of the Bovine Respiratory System and Its Practical Application. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 25, 633–649.
- Bacha, F., 2005. Nutrición intensiva de terneros pasteros. *Ganadería* 32, 70–71.
- Bach, A., Tejero, C., Ahedo, J., 2011. Effects of group composition on the incidence of respiratory afflictions in group-housed calves after weaning. *J. Dairy Sci.* 94, 2001–2006.
- Baldwin, C.L., Hsu, H., Chen, C., Palmer, M., McGill, J., Waters, W.R., Telfer, J.C., 2014. The role of bovine  $\gamma\delta$  T cells and their WC1 co-receptor in response to bacterial pathogens and promoting vaccine efficacy: A model for cattle and humans. *Spec. Issue Dual Purp. Dual Benefit Res. Models Vet. Biomed. Res.* 159, 144–155.
- Barakzai, S., Taylor, S.E., Keen, J., 2008. Use of a tissue sealing device for thoroscopically guided lung biopsy in a pony. *Vet. Rec.* 163, 634–635.
- Basarab, J., Milligan, D., Hand, R., Huisma, C., 1996. Automatic monitoring of watering behavior in feedlot steers: Potential use in early detection of respiratory disease and in predicting growth performance, in: *Proc. Can. Soc. Anim. Sci. Presented at the 46th Annual Conf July 7-11., Lethbridge*, pp. 28–33.
- Batista, C.F., Blagitz, M.G., Santos, B.P., Bertagnon, H.G., Parra, A.C., Vianna, R.S., de Lucca, G.G., Lima, D.M., Santos, D.S., Libera, A.M.M.P. Della, 2012. Maturation of mononuclear phagocytes in the lungs of young calves—In vitro study. *J. Dairy Sci.* 95, 5909–5915.
- Bauer, T., 2000. Lung biopsy. *Vet Clin North Am Small Anim Pr.* 30, 1207–1226.
- Berchtold, B., Meylan, M., Gendron, K., Morath, U., Rytz, U., Lejeune, B., 2013. Successful treatment of an intrathoracic bronchogenic cyst in a Holstein-Friesian calf. *Acta Vet. Scand.* 55, 14.
- Berry, B., Confer, A., Krehbiel C.R., Gill D.R., Smith R.A., Montelongo M., 2004. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response. *J Anim Sci* 82, 845–50.
- Billeter, A.T., Druen, D., Franklin, G.A., Smith, J.W., Wrightson, W., Richardson, J.D., 2013. Video-assisted thoracoscopy as an important tool for trauma surgeons: a systematic review. *Langenbecks Arch. Surg. Dtsch. Ges. Chir.* 398, 515–523.
- Blanchard, P., 2000. Sampling techniques for the diagnosis of digestive disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pr.* 16, 23–36.
- Blas, C., García-Rebollar, P., Cambra-López, M., Torres, A., 2008. El cebo de terneros en España, una actividad respetuosa con el medio ambiente. Estudio de la repercusión de la producción de vacuno de carne en la emisión de gases con efecto invernadero.
- Booker, C.W., Abutarbush, S.M., Morley, P.S., Jim, G.K., Pittman, T.J., Schunicht, O.C., Perrett, T., Wildman, B.K., Fenton, R.K., Guichon, P.T., Janzen, E.D., 2008. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 49, 473–481.
- Booker, C.W., Abutarbush, S.M., Schunicht, O.C., Jim, G.K., Perrett, T., Wildman, B.K., Guichon, P.T., Pittman, T.J., Jones, C., Pollock, C.M., 2007. Evaluation of the efficacy of tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot calves. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 8 (3), 183–200.

- Booker, C.W., Jim, G.K., Guichon, P.T., Schunicht, O.C., Thorlakson, B.E., Lockwood, P.W., 1997. Evaluation of florfenicol for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 38, 555–560.
- Booker, C.W., Schunicht, O.C., Guichon, P.T., Jim, G.K., Wildman, B.K., Pittman, T.J., Perrett, T., 2006. An evaluation of the metaphylactic effect of ceftiofur crystalline free Acid in feedlot calves. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 7, 257–274.
- Borenstein, N., Behr, L., Chetboul, V., Tessier, D., Nicole, A., Jacquet, J., Carlos, C., Retortillo, J., Fayolle, P., Pouchelon, J.L., Daniel, P., Laborde, F., 2004. Minimally invasive patent ductus arteriosus occlusion in 5 dogs. *Vet. Surg. VS* 33, 309–313.
- Borgeskov, S., Francis, D., 1974. A comparison between fine-needle biopsy and fiberoptic bronchoscopy in patients with lung lesions. *Thorax* 29, 352–354.
- Boxus, M., Letellier, C., Kerkhofs P., 2005. Real Time RT-PCR for the detection and quantitation of bovine respiratory syncytial virus. *J Virol Methods* 125, 125–30.
- Branscum, A.J., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2005. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. *Prev. Vet. Med.* 68, 145–163.
- Braun U., Estermann U., Feige K., Sydler T., Pospischil A., 1999. Percutaneous lung biopsy in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 215, 679–681.
- Braun, U., Estermann, U., Flückiger, M., Sydler, T., Pospischil, A., 2000. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy in sheep. *Vet. Rec.* 146, 525–528.
- Brisson, B.A., Reggeti, F., Bienzle, D., 2006. Portal site metastasis of invasive mesothelioma after diagnostic thoracoscopy in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229, 980–983.
- Brodersen, B.W., Kelling, C.L., 1996. A cucumber mount for processing lung biopsy specimens from calves. *J. Vet. Diagn. Investig. Off. Publ. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn. Inc* 8, 518–519.
- Brooks, K.R., Raper, K.C., Ward, C.E., Holland, B.P., Krehbiel, C.R., Step, D.L., 2011. Economic effects of bovine respiratory disease on feedlot cattle during backgrounding and finishing phases. *Prof. Anim. Sci.* 27, 195–203.
- Brscic, M., Leruste, H., Heutinck, L.F.M., Bokkers, E.A.M., Wolthuis-Fillerup, M., Stockhofe, N., Gottardo, F., Lensink, B.J., Cozzi, G., Van Reenen, C.G., 2012. Prevalence of respiratory disorders in veal calves and potential risk factors. *J. Dairy Sci.* 95, 2753–2764.
- Bruce, N., Pope, D., Stanistreet, D., 2009. Prevention strategies and evaluation of screening. In: Hoboken, N.J. (Ed.), *Quantitative Methods for Health Research: a Practical Interactive Guide to Epidemiology and Statistics*. Wiley-Interscience, Great Britain, pp. 433–464.
- Bryant, L., Perino, L., Griffin, D., 1999. A method for recording pulmonary lesions of beef calves at slaughter, and the association of lesions with average daily gain. *Bov. Pr.* 33, 163–173.
- Buczinski, S., Forté, G., Bélanger, A.M., 2013. Short communication: Ultrasonographic assessment of the thorax as a fast technique to assess pulmonary lesions in dairy calves with bovine respiratory disease. *J. Dairy Sci.* 96, 4523–4528.
- Buczinski, S., Forté, G., Francoz, D., Bélanger, A.M., 2014. Comparison of Thoracic Auscultation, Clinical Score, and Ultrasonography as Indicators of Bovine Respiratory Disease in Preweaned Dairy Calves. *J. Vet. Intern. Med.* 28, 234–242.
- Buczinski, S., L Ollivett, T., Dendukuri, N., 2015a. Bayesian estimation of the accuracy of the calf respiratory scoring chart and ultrasonography for the diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 119, 227–231.

- Buczinski, S., Rademacher, R.D., Tripp, H.M., Edmonds, M., Johnson, E.G., Dufour, S., 2015b. Assessment of l-lactatemia as a predictor of respiratory disease recognition and severity in feedlot steers. *Prev. Vet. Med.* 118, 306–318.
- Buhman, M.J., Perino, L.J., Galyean, M.L., Wittum T.E., Montgomery T.H., Swingle R.S., 2000. Association between changes in eating and drinking behaviors and respiratory tract disease in newly arrived calves at a feedlot. *Am. J. Vet. Res.* 61, 1163–8.
- Bulpa, P.A., Dive, A.M., Mertens, L., Delos, M.A., Jamart, J., Evrard, P.A., Gonzalez, M.R., Installe, E.J., 2003. Combined bronchoalveolar lavage and transbronchial lung biopsy: safety and yield in ventilated patients. *Eur. Respir. J.* 21, 489–494.
- Burciaga-Robles, L., Holland B.P., Step, D.L., Krehbiel C.R., McMillen G.L., Richards C.J., Sims L.E., Jeffers J.D., Namjou K., McCann P.J., 2009. Evaluation of breath biomarkers and serum haptoglobin concentration for diagnosis of bovine respiratory disease in heifers newly arrived at a feedlot. *Am. J. Vet. Res.* 70, 1291–8.
- Bureau, F., Coghe, J., Uystepuyst, C.H., Desmecht, D., Lekeux, P., 1999a. Maximal Ventilation Assessment in Healthy Calves. *Vet. J.* 157, 309–314.
- Bureau, F., Uystepuyst, C.H., Coghe, J., Van de Weerd, M.L., Lekeux, P., 1999b. Spirometric Variables Recorded after Lobeline Administration in Healthy Friesian and Belgian White and Blue Calves: Normal Values and Effects of Somatic Growth. *Vet. J.* 157, 302–308.
- Burgess, B.A., 2009. The development and assesment of a lung biopsy technique for early BRD detection. Department of Large Animal Clinical Sciences Western College of Veterinary Medicine University of Saskatchewan, Saskatoon.
- Burgess, B.A., Hendrick, S.H., Pollock, C.M., Abutarbush, S.M., Vogstad, A., Jim, G.K., Booker, C.W., 2011. The development of a novel percutaneous lung biopsy procedure for use on feedlot steers. *Can J Vet Res* 75, 254.
- Burgess, B.A., Hendrick, S.H., Pollock, C.M., Hannon, S.J., Abutarbush, S.M., Vogstad, A., Jim, G.K., Booker, C.W., 2013. The use of lung biopsy to determine early lung pathology and its association with health and production outcomes in feedlot steers. *Can J Vet Res* 77, 281–287.
- Burrells, C., Williams, J.T., 1987. Bronchoalveolar lavage of the live anaesthetised sheep. *Res. Vet. Sci.* 42, 109–112.
- Callan, R.J., Garry, F.B., 2002. Biosecurity and bovine respiratory disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 18, 57–77. doi:10.1016/S0749-0720(02)00004-X
- Callejas Pérez, M., Belda Sanchis J., Baldó Padró X., Canals Arrayás E., Catalán Biel M., Gimferrer Garolera J.M., 1995. Biopsia pulmonar en la enfermedad intersticial difusa: videotoracoscopia frente a toracotomía. *Archivos de Bronconeumología* 32 (1), 10-13
- Campbell, J.R., 2004. Effect of bovine viral diarrhea virus in the feedlot. *Bov. Viral Diarrhea Virus* 20, 39–50.
- Carter, J., Meredith, G., Montelongo M., Gill D.R., Krehbiel C.R., Payton M.E., Confer A.W., 2002. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. *Am. J. Vet. Res.* 63, 1111–7.
- Caswell, J.L., Archambault, M., 2008. Mycoplasma bovis pneumonia in cattle. *Anim. Health Res. Rev.* 8, 161–186.
- Caswell, J.L., Hewson, J., Slavić, D., DeLay, J., Bateman, K., 2012. Laboratory and *Postmortem* Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 419–441.
- Catry, B., Duchateau, L., Van de Ven, J., Laevens, H., Opsomer, G., Haesebrouck, F., De Kruif, A., 2008. Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 31, 479–487.
- Cattle population worldwide 1990-2013], 2015. Stat. Portal. URL <http://www.statista.com/statistics/263979/global-cattle-population-since-1990/>

- Cernicchiaro, N., White, B.J., Renter, D.G., Babcock, A.H., 2013. Evaluation of economic and performance outcomes associated with the number of treatments after an initial diagnosis of bovine respiratory disease in commercial feeder cattle. *Am. J. Vet. Res.* 74, 300–309.
- Chacon, G., Garcia-Belenguer, S., Villarroel, M., Maria, G.A., 2005. Effect of transport stress on physiological responses of male bovines. *DTW Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 112, 465–469.
- Chen, Y., Li, S., Chen, H., Zhong, C., Zhong, N., 2014. Electromagnetic navigation bronchoscopy real-time guidance lung biopsy for the diagnosis of small peripheral pulmonary lesions. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi Chin. J. Tuberc. Respir. Dis.* 37, 579–582.
- Chopra, S.K., Mohsenifar, Z., 1979. Fiberoptic bronchoscopy in diagnosis of opportunistic lung infections: assessment of Sputa, Washings, Brushings and biopsy specimens. *West. J. Med.* 131.
- CMO Committee, 2015. Beef & Veal market situation. [http://ec.europa.eu/agriculture/beef-veal/presentations/market-situation\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/beef-veal/presentations/market-situation_en.pdf)
- Coghe, J., Uystepuyst, C.H., Bureau, F., Detilleux, J., Art, T., Lekeux, P., 2000. Validation and Prognostic Value of Plasma Lactate Measurement in Bovine Respiratory Disease. *Vet. J.* 160, 139–146.
- Cohen, N.D., Vacek, J.R., Seahorn, T.L., Schumacher, J.R., 1991. Cystic nasal concha in a calf. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198, 1035–1036.
- Comisión Europea, 2005. El sector cárnico de la Unión Europea.
- Cook, W.R., 1970. Procedure and Technique for Endoscopy of the Equine Respiratory Tract and Eustachian Tube Diverticulum. *Equine Vet. J.* 2, 137–152.
- Cooper, V.L., Brodersen, B.W., 2010. Respiratory Disease Diagnostics of Cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 409–416.
- Creevy, K.E., 2009. Airway Evaluation and Flexible Endoscopic Procedures in Dogs and Cats: Laryngoscopy, Transtracheal Wash, Tracheobronchoscopy, and Bronchoalveolar Lavage. *Endoscopy* 39, 869–880.
- Curley, F.J., Johal, J.S., Burke, M.E., Fraire, A.E., 1998. Transbronchial lung biopsy: can specimen quality be predicted at the time of biopsy? *Chest* 113, 1037–1041.
- Cusack, P.M.V., 2004. Effect of mass medication with antibiotics at feedlot entry on the health and growth rate of cattle destined for the Australian domestic market. *Aust. Vet. J.* 82, 154–156.
- Dadak, A.M., Franz, S., Jäger, W., Tichy, A., Baumgartner, W., Mosing, M., 2009. Pharmacokinetics and clinical efficacy of lidocaine in cattle after intranasal administration during rhinotracheobronchoscopy. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 32, 300–302.
- Daly, C.M., Swalec-Tobias, K., Tobias, A.H., Ehrhart, N., 2002. Cardiopulmonary effects of intrathoracic insufflation in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38, 515–520.
- Dear, J.D., Johnson, L.R., 2013. Lower respiratory tract endoscopy in the cat: diagnostic approach to bronchial disease. *J. Feline Med. Surg.* 15, 1019–1027.
- De Clercq, D., van Loon, G., Lefere, L., Deprez, P., 2004. Ultrasound-guided biopsy as a diagnostic aid in three horses with a cranial mediastinal lymphosarcoma. *Vet. Rec.* 154, 722–726.
- Deegen, E., Muller, P., Petzoldt, K., 1982. Bronchoscopy and cytological examination of bronchial secretions of horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Poumon Coeur* 38, 311–316.
- De Haas, V., Etoré, F., Bonnier, M., Calvo, E., Miotto, L., Cloet, P.R., Morris, F., Montgomery, A., Franz, N., Van De Ven, J., 2006. Incidencia y sensibilidad de los principales agentes patógenos del Síndrome Respiratorio Bovino en Europa, in: *International Symposium Proceedings Held in Conjunction with XXIV World Buiatric Congress*. Nice, France, pp. 33–40.



- DeLong, E.R., DeLong, D.M., Clarke-Pearson, D.L., 1988. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 44, 837–845.
- DeRosa, D., Mechor, G., Staats, J., Chengappa, M., Shryock, T., 2000. Comparison of *Pasteurella* spp. simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease. *J Clin Microbiol* 38, 327–332.
- Desmecht, D.J.M., Linden, A.S., Lekeux, P.M., 1996. The relation of ventilatory failure to pulmonary, respiratory muscle and central nervous system disturbances in calves with an experimentally produced pneumonia. *J. Comp. Pathol.* 115, 203–219.
- Deuffic, P., Candau, J., 2006. Farming and landscape management: how French farmers are coping with the ecologization of their activities. *J Agric Env. Ethics* 19, 563–85.
- Dhumeaux, M.P., Haudiquet, P.R., 2013. Combined idiopathic chylopericardium and chylothorax treated with pericardiectomy under thoracoscopy in a dog. *Prat. Médicale Chir. Anim. Cie.* 48, 87–90.
- Diacon, A.H., Van de Wal, B.W., Wyser, C., Smedema, J.P., Bezuidenhout, J., Bolliger, C.T., Walzl, G., 2003. Diagnostic tools in tuberculous pleurisy: a direct comparative study. *Eur. Respir. J.* 22, 589–591.
- Díaz, M.C., Van Amburgh, M.E., Smith, J.M., Kelsey, J.M., Hutten, E.L., 2001. Composition of Growth of Holstein Calves Fed Milk Replacer from Birth to 105-Kilogram Body Weight<sup>1</sup>. *J. Dairy Sci.* 84, 830–842.
- Dickson, R.P., Erb-Downward, J.R., Huffnagle, G.B., 2013. The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev. Respir. Med.* 7, 245–257.
- Dixon, G., de Fonseka, D., Maskell, N., 2015. Pleural controversies: image guided biopsy vs. thoracoscopy for undiagnosed pleural effusions? *J. Thorac. Dis.* 7, 1041–1051.
- Dixon, P.M., 1997. Ancillary diagnostic techniques for the investigation of equine pulmonary disease. *Equine Vet. Educ.* 9, 72–80.
- Dixon, P.M., Railton, D.I., McGorum, B.C., 1995. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. *Equine Vet. J.* 27, 416–421.
- Donawick, J., Baue, E., 1968. Blood gas, acid-base balance and alveolar-arterial oxygen gradient in calves. *Am. J. Vet. Res.* 29, 561–567.
- Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M., Bennett, F.L., 1998. Calf and disease factors affecting growth in female holstein calves in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.* 33, 1–10.
- Doster, A.R., 2010. Bovine Atypical Interstitial Pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 395–407.
- Doucet, M., Viel, L., 2002. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. *Can Vet J* 43, 195–202.
- Ducharme N.G., Fubini S.L., Rebhun W.C., Beck K.A., 1999. Thoracotomy in adult dairy cattle: 14 cases (1979-1991). *Clin Tech Small Anim Pract.* 14, 213–219.
- Duff, G.C., Walker, D.A., Malcolm-Callis, K.J., Wiseman, M.W., Hallford, D.M., 2000. Effects of preshipping vs. arrival medication with tilmicosin phosphate and feeding chlortetracycline on health and performance of newly received beef cattle. *J. Anim. Sci.* 78, 267–274.
- Duff, G., Galyean, M., 2007. Board-Invited Review: Recent Advances in Management of Highly Stressed, Newly Received Feedlot Cattle. *J Anim Sci* 85, 823–840.
- Dungworth, D.L., Hoare, M.N., 1970. Trephine lung biopsy in cattle and horses. *Res. Vet. Sci.* 11, 244–246.
- Dupre, G.P., Corlouer, J.P., Bouvy, B., 2001. Thoracoscopic pericardectomy performed without pulmonary exclusion in 9 dogs. *Vet. Surg. VS* 30, 21–27.

- Eapen, G.A., Shah, A.M., Lei, X., Jimenez, C.A., Morice, R.C., Yarmus, L., Filner, J., Ray, C., Michaud, G., Greenhill, S.R., Sarkiss, M., Casal, R., Rice, D., Ost, D.E., 2013. Complications, consequences, and practice patterns of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: Results of the AQUIRE registry. *Chest* 143, 1044–1053.
- Eckersall, P., Conner, J., 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun* 12, 169–78.
- Edward, A.J., 1996. Respiratory diseases of feedlot cattle in the central USA. *Bov Pr.* 30, 5–7.
- Edwards, T.A., 2010. Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 273–284.
- Encinas, A., Walker, D.A., Murdock, C., 2006. Effects of prophylactic administration of ceftiofur crystalline free acid on health and performance of newly received beef calves, in: *Proc Western Section American Society of Animal Science*. pp. 160–3.
- Enoe, C., Georgiadis, M.P., Johnson, W.O., 2000. Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Prev. Vet. Med.* 45, 61–81.
- Epperson, W. P., 2003. A preliminary assessment of lung lesion distribution in fed cattle.
- Espinasse, J., Alzieu, J., 1991. Use of transtracheal aspiration to identify pathogens in pneumonic calves. *Vet Rec* 129, 339.
- Espinosa-Crespo, I., Texeira Justo C., Sacristán Álvarez S., Ordis Pla P., Pérez-Villalobos, N., 2014. Case report. Lung thoracoscopy-guided biopsy in a suckling calf. Presented at Congreso Internacional ANEMBE, Oviedo.
- Estermann, U., 1998. Lungenbiopsie bei Rind und Schaf unter Ultraschallkontrolle. Presented at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zurich, Zurich, Switzerland.
- EUROSTAT, 2014. Agricultural production - animals. [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Agricultural\\_production\\_-\\_animals](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Agricultural_production_-_animals)
- Evison, M., Crosbie, P.A.J., Bright-Thomas, R., Alaloul, M., Booton, R., 2014. Cerebral air embolism following transbronchial lung biopsy during flexible bronchoscopy. *Respir. Med. Case Rep.* 12.
- FAO, 2015. Fuentes de carne, en Producción y Bienestar Animal. <http://www.fao.org>
- FAO, 2014. Perspectivas alimentarias-Análisis del mercado mundial 2014. <http://www.fao.org>
- Faunt, K.K., Jones, B.D., Turk, J.R., Cohn, L.A., Dodam, J.R., 1998. Evaluation of biopsy specimens obtained during thoracoscopy from lungs of clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 59, 1499–1502.
- Ferguson, M.K., 1993. Thoracoscopy for diagnosis of diffuse lung disease. *Ann. Thorac. Surg.* 56, 694–696.
- Ferson, P.F., Landreneau, R.J., 1998. Thoracoscopic lung biopsy or open lung biopsy for interstitial lung disease. *Chest Surg. Clin. N. Am.* 8, 749–762.
- Fibla, J.J., Molins, L., Blanco, A., Royo, Í., Vallina, P.M., Martínez, N., Barajas, S.G., Gomez, A., Estors, M., Moldes, M., others, 2012. Video-assisted thoracoscopic lung biopsy in the diagnosis of interstitial lung disease: a prospective, multi-center study in 224 patients. *Arch. Bronconeumol. Engl. Ed.* 48, 81–85.
- Fisher, E., 1956. Arterial puncture in cattle. *Vet Rec* 68, 691.
- Flöck, M., 2004. Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease. *Vet. J.* 167, 272–280.
- Foddai, A., Idini, G., Fusco, M., Rosa, N., de la Fe, C., Zinellu, S., Corona, L., Tola, S., 2005. Rapid differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* based on a multiplex-PCR and a PCR-RFLP. *Mol. Cell. Probes* 19, 207–212.

- Fogarty, U., Quinn, P., Hannan, J., 1983. Bronchopulmonary lavage in the calf - a new technique. *Ir. Vet. J.* 37, 35–38.
- Ford, T.S., Schumacher, J., Chaffin, M.K., Vacek, J., Brumbaugh, G.W., Crossland, L.E., 1991. Surgical repair of an intrathoracic esophageal pulsion diverticulum in a horse. *Vet. Surg.* VS 20, 316–319.
- Ford, T.S., Vaala, W.E., Sweeney, C.R., Skand, D., Saik, J.E., 1987. Pleuroscopic diagnosis of gastroesophageal squamous cell carcinoma in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190, 1556–1558.
- Francis, G., Thomas, J., 1975. Isolation and characterization of acidic structural glycoproteins in pulmonary tissues. *Biochem J* 145, 299–304.
- Frank, G.H., Briggs, R.E., Duff, G.C., Loan, R.W., Purdy, C.W., 2002. Effects of vaccination prior to transit and administration of florfenicol at time of arrival in a feedlot on the health of transported calves and detection of *Mannheimia haemolytica* in nasal secretions. *Am. J. Vet. Res.* 63, 251–256.
- Frank, G.H., Duff, G.C., 2000. Effects of tilmicosin phosphate, administered prior to transport or at time of arrival, and feeding of chlortetracycline, after arrival in a feedlot, on *Mannheimia haemolytica* in nasal secretions of transported steers. *Am. J. Vet. Res.* 61, 1479–1483.
- Franz, S., Baumgartner, W., 2007. Diagnostic use of endoscopy in a cow with pharyngeal chondrosarcoma. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift* 114, 183–187.
- Fritscher-Ravens, A., Cuming, T., Eisenberger, C.F., Ghadimi, M., Nilges, A., Meybohm, P., Schiffmann, S., Jacobsen, B., Seehusen, F., Niemann, H., Knoefel, W.T., 2010. Randomized comparative long-term survival study of endoscopic and thoracoscopic esophageal wall repair after NOTES mediastinoscopy in healthy and compromised animals. *Endoscopy* 42, 468–474.
- Fritscher-Ravens, A., Cuming, T., Jacobsen, B., Seehusen, F., Ghanbari, A., Kahle, E., von Herbay, A., Koehler, P., Milla, P., 2009. Feasibility and safety of endoscopic full-thickness esophageal wall resection and defect closure: a prospective long-term survival animal study. *Gastrointest. Endosc.* 69, 1314–1320.
- Fritscher-Ravens, A., Cuming, T., Olagbaiye, F., Holland, C., Milla, P., Seehusen, F., Haderer, K.G., Arlt, A., Mannur, K., 2011. Endoscopic transesophageal vs. thoracoscopic removal of mediastinal lymph nodes: a prospective randomized trial in a long term animal survival model. *Endoscopy* 43, 1090–1096.
- Fulton, R.W., 2009. Bovine respiratory disease research (1983–2009). *Anim. Health Res. Rev.* 10, 131–139.
- Fulton, R.W., Confer, A.W., 2012. Laboratory test descriptions for bovine respiratory disease diagnosis and their strengths and weaknesses: gold standards for diagnosis, do they exist? *Can. Vet. J.* 53, 754.
- Fulton, R.W., Cook, B.J., Step, D.L., Confer, A.W., Saliki, J.T., Payton, M.E., Burge, L.J., Welsh, R.D., Blood, K.S., 2002. Evaluation of health status of calves and the impact on feedlot performance: assessment of a retained ownership program for postweaning calves. *Can. J. Vet. Res. Rev. Can. Rech. Veterinaire* 66, 173–180.
- Gaensler, E.A., Carrington, C.B., 1980. Open biopsy for chronic diffuse infiltrative lung disease: clinical, roentgenographic, and physiological correlations in 502 patients. *Ann. Thorac. Surg.* 30, 411–426.
- Gagea, M.I., Bateman, K.G., van Dreumel, T., McEwen, B.J., Carman, S., Archambault, M., Shanahan, R.A., Caswell, J.L., 2006a. Diseases and Pathogens Associated with Mortality in Ontario Beef Feedlots. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18, 18–28.
- Galyean, M.L., Gunter, S.A., Malcolm-Callis, K.J., 1995. Effects of arrival medication with tilmicosin phosphate on health and performance of newly received beef cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 1219–1226.

- Gamboa, J.C., Angel, K.L., Shoemaker, R.S., Kornegay, R.W., Claxton-Gill, M.S., Hoyt, P.G., 1992. Laryngeal granuloma in a bull. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 460–462.
- Gantelius, J., Hamsten, C., Neiman, M., Schwenk, J.M., Persson, A., Andersson-Svahn, H., 2010. A lateral flow protein microarray for rapid determination of contagious bovine pleuropneumonia status in bovine serum. *J. Microbiol. Methods* 82, 11–18.
- Garcia, F., Prandi, D., Pena, T., Franch, J., Trasserra, O., de la Fuente, J., 1998. Examination of the thoracic cavity and lung lobectomy by means of thoracoscopy in dogs. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 39, 285–291.
- Gerhardus, D., 2003. Robot-assisted surgery: the future is here. *J. Healthc. Manag. Am. Coll. Healthc. Exec.* 48, 242–251.
- Ginsberg, R.J., 1993. Thoracoscopy: a cautionary note. *Ann Thorac Surg* 56, 801–803.
- Gluer, S., Schwerk, N., Reismann, M., Metzelder, M.L., Nustede, R., Ure, B.M., Gappa, M., 2008. Thoracoscopic biopsy in children with diffuse parenchymal lung disease. *Pediatr. Pulmonol.* 43, 992–996.
- Godinho, K.S., Wolf, R.M.L.G., Sherington, J., Rowan, T.G., Sunderland, S.J., Evans, N.A., 2005. Efficacy of tulathromycin in the treatment and prevention of natural outbreaks of bovine respiratory disease in European cattle. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 6, 122–135.
- Godinho, Sarasola, P., Renoult, E., Tilt, N., Keane, S., Windsor, GD, Rowan, TG, Sunderland, SJ, 2007. Use of deep nasopharyngeal swabs as a predictive diagnostic method for natural respiratory infections in calves. *Vet. Rec.* 160, 22–25.
- Godson, D.L., Campos, M., Attah-Poku, S.K., Redmond, M.J., Cordeiro, D.M., Sethi, M.S., Harland, R.J., Babiuk, L.A., 1996. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 51, 277–292.
- González-Martín, J., Pérez-Villalobos, N., 2015. Síndrome Respiratorio Bovino, 1ª ed. Servet, Zaragoza, España. *In press*.
- Gorden, P.J., Plummer, P., 2010. Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 243–259.
- Griffin, D., 2015. Feedlot Euthanasia and Necropsy. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* doi:10.1016/j.cvfa.2015.05.009
- Griffin, D., 2012. Field Necropsy of Cattle and Diagnostic Sample Submission. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 391–405.
- Griffin, D., 1997. Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 13, 367–77.
- Griffin, D., Chengappa, M.M., Kuszak, J., McVey, D.S., 2010. Bacterial Pathogens of the Bovine Respiratory Disease Complex. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 381–394.
- Grode, G., Faurschou, P., Milman, N., 1993. Percutaneous transthoracic fine-needle lung biopsy with 3 different needles. A retrospective study of results and complications in 224 patients. *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.* 60, 284–288.
- Guichon, P.T., Booker, C.W., Jim, G.K., 1993. Comparison of two formulations of oxytetracycline given prophylactically to reduce the incidence of bovine respiratory disease in feedlot calves. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 34, 736–741.
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Loken, T., Akerstedt, J., Osteras, O., 2009. Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92, 5139–5146.
- Gupta, P.K., Saini, M., Gupta, L.K., Rao, V.D.P., Bandyopadhyay, S.K., Butchaiah, G., Garg, G.K., Garg, S.K., 2001. Induction of immune responses in cattle with a DNA vaccine encoding glycoprotein C of bovine herpesvirus-1. *Vet. Microbiol.* 78, 293–305.

- Gustin, P., Clerbaux T., Willems E., Lekeux P., Lomba F., Frans, A., 1988a. Oxygen transport properties of blood in different bovine breeds. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 89, 553–8.
- Gustin, P., De Groote, A., Dhem A.R., Bakima M., Lomba F., Lekeux P., 1988b. A comparison of PO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH and bicarbonate in blood from the carotid and coccygeal arteries of calves. *Vet. Res. Commun.* 12, 343–346.
- Haasler, G., 1995. Video-assisted thoracic surgery. In: *Laparoscopic and Thoracoscopic Surgery*. C.T. Frantzides, Mosby, St. Louis.
- Haimel, G., Liehmann, L., Dupre, G., 2012. Thoracoscopic en bloc thoracic duct sealing and partial pericardectomy for the treatment of chylothorax in two cats. *J. Feline Med. Surg.* 14, 928–931.
- Haines, D.M., Martin, K.M., Clark, E.G., Jim, G.K., Janzen, E.D., 2001. The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine viral diarrhoea virus in tissues of feedlot cattle with chronic, unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Can. Vet. J.* 42, 857.
- Haines, D.M., West, K.H., 2005. Immunohistochemistry: forging the links between immunology and pathology. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108, 151–156.
- Hanzlicek, G.A., White, B.J., Renter, D.G., Blasi, D.A., 2010. A field study evaluating health, performance, and behavior differences in crossbred beef calves administered different vaccine-parasiticide product combinations. *Vaccine* 28, 5998–6005.
- Harland, R.J., Jim, G.K., Guichon, P.T., Townsend, H.G., Janzen, E.D., 1991. Efficacy of parenteral antibiotics for disease prophylaxis in feedlot calves. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 32, 163–168.
- Hart, B.L., 1988. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 12, 123–137.
- Heilmann, P., Müller, G., Reinhold, P., 1988. Bronchoscopy and Segmental Bronchoalveolar Lung Lavage of Anesthetised Calf. *Monatsh Veterinärmed* 43, 79–84.
- Hendrickson, D.A., Wilson, D.G., 1996. Instrumentation and techniques for laparoscopic and thoracoscopic surgery in the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 12, 235–259.
- Hinchcliff, K.W., Byrne, B.A., 1991. Clinical examination of the respiratory system. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 7.
- Hoiseth, L.O., Hisdal, J., Hoff, I.E., Hagen, O.A., Landsverk, S.A., Kirkeboen, K.A., 2015. Tissue oxygen saturation and finger perfusion index in central hypovolemia: influence of pain. *Crit. Care Med.* 43, 747–756.
- Horadagoda, N., Knox, K., Gibbs HA, Reid SW, Horadagoda A, Edwards SE, Eckersall PD., 1999. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec* 144, 437–41.
- Huang, Y., Huang, H., Li, Q., Browning, R.F., Parrish, S., Turner, J.F.J., Zarogoulidis, K., Kougioumtzi, I., Dryllis, G., Kioumis, I., Pitsiou, G., Papaiwannou, A., Lampaki, S., Machairiotis, N., Katsikogiannis, N., Madesis, A., Karaiskos, T., Li, Z., Zarogoulidis, P., 2014. Transbronchial lung biopsy and pneumothorax. *J. Thorac. Dis.* 6, S443–447.
- Humblet, M.F., Coghe, J., Lekeux, P., Godeau, J.M., 2004. Acute phase proteins assessment for an early selection of treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions. *Res. Vet. Sci.* 77, 41–47.
- Ibrahim, M., D'Andrilli A., Ciccone A.M., Maurizi G., Cassiano F., Rendina E.A., 2015. Flexible videoscope for thoracoscopic lobectomy: evolution of uniportal technique. *Surg Endosc* 29, 2056–9.
- INFOCARNE, 2010. Producción, comercio y consumo de carne y leche procedente de ganado vacuno. [http://www.infocarne.com/bovino/comercio\\_consumo\\_carne\\_leche\\_de\\_vaca.htm](http://www.infocarne.com/bovino/comercio_consumo_carne_leche_de_vaca.htm)

- Isakow, K., Fowler, D., Walsh, P., 2000. Video-assisted thoracoscopic division of the ligamentum arteriosum in two dogs with persistent right aortic arch. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217, 1333–1336.
- Ives, S.E., Richeson, J.T., 2015. Use of Antimicrobial Metaphylaxis for the Control of Bovine Respiratory Disease in High-Risk Cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* doi:10.1016/j.cvfa.2015.05.008
- Izumi, Y., Oyama, T., Kawamura, M., Kobayashi, K., 2004. Lung biopsy with a 12-gauge cutting needle is possible using an insertion sheath in animal models. *Acad. Radiol.* 11, 1278–1281.
- Jackson, J., Richter, K.P., Launer, D.P., 1999. Thoracoscopic partial pericardiectomy in 13 dogs. *J. Vet. Intern. Med. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 13, 529–533.
- Jacobaeus, H., 1925. Die Thorakoskopie und ihre praktische Bedeutung. *Ergebn Ges Med* 7, 112–66.
- Jacobaeus, H., 1910. Über die Möglichkeit die Zystoskopie bei Untersuchung seröser Höhlen anzuwenden. *Münch. Med. Zschr* 40, 2090–2092.
- Jacobsen, V.B., Laoutliev, B.N., Milman, N., 2001. Hemopneumothorax. A rare complication to flexible bronchoscopy with transbronchial lung biopsy. *Ugeskr. Laeger* 163, 7074–7075.
- Janssen, J.P., 2010. Why you do or do not need thoracoscopy. *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.* 19, 213–216.
- Janssen, J.P., Postmus, P.E., Van Mourik, J.C., Cuesta, M.A., 1995. Diagnostic thoracoscopy. *Diagn. Ther. Endosc.* 1. doi:10.1155/DTE.1.195
- Jean, G.S., Robertson, J.T., 1987. Cystic nasal concha as a cause of unilateral nasal obstruction in a young bull. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 28, 251–253.
- Jerome, K., 2010. *Diagnosis of Viral Infections*, 4th ed. Lennette's Laboratory, St. Helier, Jersey, UK.
- Jim, G.K., Booker, C.W., Guichon, P.T., Schunicht, O.C., Wildman, B.K., Johnson, J.C., Lockwood, P.W., 1999. A comparison of florfenicol and tilmicosin for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 40, 179–184.
- Jim, G.K., 2009. Impact of bovine respiratory disease (BRD) from the perspective of the Canadian beef producer. *Anim. Health Res. Rev.* 10, 109–110.
- Johnson, J.C., Bryson, W.L., Barringer, S., Hunsaker, B.D., 2008. Evaluation of on-arrival versus prompted metaphylaxis regimes using ceftiofur crystalline free acid for feedlot heifers at risk of developing bovine respiratory disease. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 9.
- Johnson, L., 2001. Small animal bronchoscopy. *Vet Clin North Am Small Anim Pr.* 31, 691–705.
- Johnson, L.R., Drazenovich, T.L., 2007. Flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in 68 cats (2001-2006). *J. Vet. Intern. Med. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 21, 219–225.
- Jones, M.L., Allison, R.W., 2007. Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 23, 377–402.
- Jubb KVF, Kennedy PC, 1991. *Patología de los animales domésticos*, 3ª ed. Agropecuaria Hemisferio Sur, Uruguay.
- Jung, C., Bostedt, H., 2004a. Thoracic Ultrasonography Technique in Newborn Calves and Description of Normal and Pathological Findings. *Vet. Radiol. Htmlent Glyphamp Asciiamp Ultrasound* 45, 331–335.
- Jung, K., Scheuer, K.A., Zhang, Z., Wang, Q., Saif, L.J., 2014. Pathogenesis of GII.2 bovine norovirus, CV186-OH/00/US strain in gnotobiotic calves. *Vet. Microbiol.* 168, 202–207.
- Kasai, Y., Yokomise, H., 2014. Infrared thoracoscopy. *Kyobu Geka* 67, 758–763.
- Kelman, G., Nunn, J., 1966. Nomograms for correction of blood PO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH and base excess for time and temperature. *J. Appl. Physiology* 21, 1484–1490.

- Kilgore, W.R., Spensley, M.S., Sun, F., Nutsch, R.G., Rooney, K.A., Skogerboe, T.L., 2005. Clinical effectiveness of tulathromycin, a novel triamilide antimicrobial, for the control of respiratory disease in cattle at high risk for developing bovine respiratory disease. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 6, 136–142.
- King, L., 2004. Bronchoscopy. *Textbook of respiratory disease in dogs and cats*. WB Saunders, St. Louis.
- Klein, J.O., 1969. Diagnostic lung puncture in the pneumonias of infants and children. *Pediatrics* 44, 486–492.
- Klohn, A., Peroni, J.F., 2000. Thoracoscopy in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 16, 351–362.
- Kreider, M.E., Hansen-Flaschen, J., Ahmad, N.N., Rossman, M.D., Kaiser, L.R., Kucharczuk, J.C., Shrager, J.B., 2007. Complications of video-assisted thoracoscopic lung biopsy in patients with interstitial lung disease. *Ann. Thorac. Surg.* 83, 1140–1144.
- Kuhlman, G., Hodgson, D., Fedde, M., 1985. Respiratory, cardiovascular and metabolic adjustments to exercise in the Hereford calf. *J. Appl. Physiology* 58, 1273–1280.
- Lansdowne, J.L., Mehler, S.J., Boure, L.P., 2012a. Minimally invasive abdominal and thoracic surgery: techniques. *Compend. Contin. Educ. Vet.* 34.
- Lansdowne, J.L., Mehler, S.J., Boure, L.P., 2012b. Minimally invasive abdominal and thoracic surgery: principles and instrumentation. *Compend. Contin. Educ. Vet.* 34.
- Lansdowne, J.L., Monnet, E., Twedt, D.C., Dernell, W.S., 2005. Thoracoscopic Lung Lobectomy for Treatment of Lung Tumors in Dogs. *Vet. Surg.* 34, 530–535.
- Lawrence, A.B., 2009. *What is Animal Welfare? Fish welfare*. Branson, Oxford, UK: Blackwell.
- Lawrence, A.B., 2008. Applied animal behaviour science: past, present and future prospects. *Appl Anim Behav Sci* 115, 1–24.
- Lawrence, A.B., Stott, A.W., 2009. Profiting from animal welfare: an animal-based perspective. Presented at the Oxford Farming Conf. 2009.
- Lechtenberg, K.F., Smith, R.A., Stokka, G.L., 1998. Feedlot health and management. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 14, 177–197.
- Lee, P., Mathur, P.N., Colt, H.G., 2010. Advances in thoracoscopy: 100 years since Jacobaeus. *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.* 79, 177–186.
- Lekeux, P., 2006. BRDC and the modulation of lung inflammation. *Vet. J.* 171, 14–15.
- Lekeux, P., Hajer, R., Breukink, H.J., 1984. Effect of somatic growth on pulmonary function values in healthy Friesian cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2003–2007.
- Leruste, H., Brscic, M., Heutinck, L.F.M., Visser, E.K., Wolthuis-Fillerup, M., Bokkers, E.A.M., Stockhofe-Zurwieden, N., Cozzi, G., Gottardo, F., Lensink, B.J., van Reenen, C.G., 2012a. The relationship between clinical signs of respiratory system disorders and lung lesions at slaughter in veal calves. *Prev. Vet. Med.* 105, 93–100.
- Liang, X., Chigerwe, M., Hietala, S.K., Crossley, B.M., 2014. Evaluation of Fast Technology Analysis (FTA) Cards as an improved method for specimen collection and shipment targeting viruses associated with Bovine Respiratory Disease Complex. *J. Virol. Methods* 202, 69–72.
- Licht, P.B., Ladergaard, L., 2010. Flexible thoracoscopy may facilitate video-assisted thoracoscopic lobectomy. *World J Surg* 34, 1470–4.
- Linke, B., Bostedt, H., Richter, A., 2013. Computer Tomographic Illustration of the Development of the Pulmonary Function in Bovine Neonates until the Twenty-First Day Postnatum. *Vet. Med. Int.* 2013, 1–12.
- Loneragan, G., Dargatz DA, Morley PS, Smith MA., 2001. Trends in mortality ratios among cattle in US feedlots. *J Am Vet Med Assoc* 219, 1122–7.
- Love, W.J., Lehenbauer, T.W., Kass, P.H., Van Eenennaam, A.L., Aly, S.S., 2014. Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine

- respiratory disease in pre-weaned dairy calves. PeerJ 2, e238. doi:10.7717/peerj.238
- Lubbers, B.V., Turnidge, J., 2015. Antimicrobial susceptibility testing for bovine respiratory disease: Getting more from diagnostic results. Vet. J. 203, 149–154.
- Lugo, Peroni, 2007. Thoracoscopy and Lung Biopsy, in: Equine Respiratory Medicine and Surgery. Elsevier, Philadelphia.
- Mackey V.S., Wheat J.D., 1985. Endoscopic examination of the equine thorax. Equine Vet. J. 17, 140–142.
- MAGRAMA, 2013. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Caracterización del sector de vacuno de carne en España.
- MAGRAMA, 2011. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Estudio del sector español de cebo.
- Malone, E.D., Farnsworth, K., Lennox, T., Tomlinson, J., Sage, A.M., 2001. Thoracoscopic-assisted diaphragmatic hernia repair using a thoracic rib resection. Vet. Surg. VS 30, 175–178.
- Martin, S.W., Meek, A.H., Davis, D.G., Johnson, J.A., Curtis, R.A., 1982. Factors associated with mortality and treatment costs in feedlot calves: the Bruce County Beef Project, years 1978, 1979, 1980. Can. J. Comp. Med. Rev. Can. Med. Comp. 46, 341–349.
- Marvel, S., Monnet, E., 2013. *Ex Vivo* Evaluation of Canine Lung Biopsy Techniques. Vet. Surg. 42, 473–477.
- Maskell, N.A., Gleeson, F.V., Davies, R.J.O., 2003. Standard pleural biopsy versus CT-guided cutting-needle biopsy for diagnosis of malignant disease in pleural effusions: a randomised controlled trial. Lancet Lond. Engl. 361, 1326–1330.
- Mathur, P.N., Loddenkemper, R., 1995. Medical thoracoscopy. Role in pleural and lung diseases. Clin. Chest Med. 16, 487–496.
- Mattoon, J.S., Andrews, D., Jones, S.L., Linford, R.L., 1991. Subepiglottic cyst causing upper airway obstruction in a neonatal calf. J. Am. Vet. Med. Assoc. 199, 747–749.
- Mayhew, P.D., 2013. Surgical views: thoracoscopy: basic principles, anesthetic concerns, instrumentation, and thoracic access. Compend. Contin. Educ. Vet. 35.
- Mayhew, P.D., Culp, W.T.N., Pascoe, P.J., Arzi, N.V., 2012. Use of the Ligasure Vessel-Sealing Device for Thoracoscopic Peripheral Lung Biopsy in Healthy Dogs: Ligasure Thoracoscopic Lung Biopsy in Dogs. Vet. Surg. 41, 523–528.
- Mayhew, P.D., Dunn, M., Berent, A., 2013. Surgical views: Thoracoscopy: common techniques in small animals. Compend. Contin. Educ. Vet. 35.
- Mazzochi, M., 2011. Crisis extraordinarias de seguridad alimentaria y la locura del mal de las “vacas locas.” El País Digit. [http://sociedad.elpais.com/sociedad/2011/02/28/actualidad/1298847607\\_850215.html](http://sociedad.elpais.com/sociedad/2011/02/28/actualidad/1298847607_850215.html).
- McCarthy, T.C., 1999. Diagnostic thoracoscopy. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 14, 213–219.
- McCarthy, TC, 1999. Diagnostic thoracoscopy. Clin Tech Small Anim Pr. 14, 213–219.
- McClary, D., Vogel, G.J., 1999. Effect of timing of tilmicosin metaphylaxis on control of bovine respiratory disease an performance in feeder cattle. Bov Pr. 33, 155–61.
- McClymont, G., 1950. A note on the establishment of carotid loops in cattle. Aust. Vet. J. 26, 138–139.
- McConnel, C.S., Garry, F.B., Hill, A.E., Lombard, J.E., Gould, D.H., 2010. Conceptual modeling of *postmortem* evaluation findings to describe dairy cow deaths. J. Dairy Sci. 93, 373–386.
- McConnel, C.S., Garry, F.B., Lombard, J.E., Kidd, J.A., Hill, A.E., Gould, D.H., 2009. A necropsy-based descriptive study of dairy cow deaths on a Colorado dairy. J. Dairy Sci. 92, 1954–1962.
- McCorkell, R., Wynne-Edwards, K., Windeyer C., Schaefer A., 2014. Limited efficacy of Fever Tag temperature sensing ear tags in calves with naturally occurring



- bovine respiratory disease or induced bovine viral diarrhea virus infection. *Can Vet J* 55, 688–90.
- McGuirk, S.M., 2008. Disease Management of Dairy Calves and Heifers. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24, 139–153.
- McGuirk, S., Peek, S., 2007. BAL collection in cows and calves. University of Wisconsin – Madison, School of Veterinary Medicine, personal communication.
- McKenna, R.J.J., Benditt, J.O., DeCamp, M., Deschamps, C., Kaiser, L., Lee, S.M., Mohsenifar, Z., Piantadosi, S., Ramsey, S., Reilly, J., Utz, J., 2004. Safety and efficacy of median sternotomy versus video-assisted thoracic surgery for lung volume reduction surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 127, 1350–1360.
- McKenna, S.L.B., Dohoo, I.R., 2006. Using and Interpreting Diagnostic Tests. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22, 195–205.
- Mercolleida, 2015. Ganado Vacuno. <http://www.mercolleida.com/mercados-ganaderos/vacuno/>
- Michaux, H., Nichols, S., Babkine, M., Francoz, D., 2014. Description of thoracoscopy and associated short-term cardiovascular and pulmonary effects in healthy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 75, 468–476.
- Miles, D.G., 2009. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). *Anim. Health Res. Rev.* 10, 101–103.
- Miller, J.D., Urschel, J.D., Cox, G., Olak, J., Young, J.E.M., Kay, J.M., McDonald, E., 2000. A randomized, controlled trial comparing thoracoscopy and limited thoracotomy for lung biopsy in interstitial lung disease. *Ann. Thorac. Surg.* 70, 1647–1650.
- Miller, J.I., Hatcher, C.R., 1978. Thoracoscopy: a useful tool in the diagnosis of thoracic disease. *Ann. Thorac. Surg.* 26, 68–72.
- Milman, N., 1995. Percutaneous lung biopsy with a fine bore cutting needle (Vacu-Cut): improved results using drill technique. *Thorax* 50, 560–562.
- Milman, N., 1993. Percutaneous lung biopsy with a semi-automatic, spring-driven fine needle. Preliminary results in 13 patients. *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.* 60, 289–291.
- Monnet, E., 2009. Interventional Thoracoscopy in Small Animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 39, 965–975.
- Morck, D.W., Merrill, J.K., Thorlakson, B.E., Olson, M.E., Tonkinson, L.V., Costerton, J.W., 1993. Prophylactic efficacy of tilmicosin for bovine respiratory tract disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202, 273–277.
- Morgan, J.A., Ginsburg, M.E., Sonett, J.R., Argenziano, M., 2003. Thoracoscopic lobectomy using robotic technology. *Heart Surg. Forum* 6, E167–169.
- Murray, C.F., Windeyer, M.C., Duffield, T.F., Haley, D.B., Pearl, D.L., Waalderbos, K.M., Leslie, K.E., 2014. Associations of serum haptoglobin in newborn dairy calves with health, growth, and mortality up to 4 months of age. *J. Dairy Sci.* 97, 7844–7855.
- Neumann, C.G., Bwibo, N.O., Murphy, S.P., Sigman, M., Whaley, S., Allen, L.H., Guthrie, D., Weiss, R.E., Demment, M.W., 2003. Animal source foods improve dietary quality, micronutrient status, growth and cognitive function in Kenyan school children: background, study design and baseline findings. *J. Nutr.* 133, 3941S–3949S.
- Nickell, J.S., White, B.J., 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 285–301.
- Nickell, J.S., White, B.J., Larson, R.L., Blasi, D.A., Renter, D.G., 2008. Comparison of short-term health and performance effects related to prophylactic administration of tulathromycin versus tilmicosin in long-hauled, highly stressed beef stocker calves. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 9, 147–156.

- Niden, A.H., Salem, F., 1997. A safe high-yield technique for cutting needle biopsy of the lung in patients with diffuse lung disease. *Chest* 111, 1615–1621.
- Nietfeld, J.C., 2010. Field Necropsy Techniques and Proper Specimen Submission for Investigation of Emerging Infectious Diseases of Food Animals. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 1–13.
- Nikunen, S., Hartel, H., Orro T., Neuvonen E., Tanskanen R., Kivelä S.L., Sankari S., Aho P., Pyörälä S., Saloniemi H., Soveri T., 2007. Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 30, 143–51.
- Noffsinger, T., Brattain, K., Quakenbush, G., Taylor, G., 2014. Field results from Whisper® stethoscope studies. *Anim. Health Res. Rev.* 15, 142–144.
- Noppen, M., 2010. The utility of thoracoscopy in the diagnosis and management of pleural disease. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 31, 751–759.
- Norris, C.R., Griffey, S.M., Samii, V.F., Christopher, M.M., Mellema, M.S., 2001. Comparison of results of thoracic radiography, cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and histologic evaluation of lung specimens in dogs with respiratory tract disease: 16 cases (1996-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 1456–1461.
- Norris, C.R., Griffey, S.M., Walsh, P., 2002. Use of keyhole lung biopsy for diagnosis of interstitial lung diseases in dogs and cats: 13 cases (1998-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221, 1453–1459.
- Nutsch, R.G., Skogerboe, T.L., Rooney, K.A., Weigel, D.J., Gajewski, K., Lechtenberg, K.F., 2005. Comparative efficacy of tulathromycin, tilmicosin, and florfenicol in the treatment of bovine respiratory disease in stocker cattle. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 6, 167–179.
- O'Brien, J.D., Ettinger, N.A., Shevlin, D., Kollef, M.H., 1997. Safety and yield of transbronchial biopsy in mechanically ventilated patients. *Crit. Care Med.* 25, 440–446.
- Ohlerth, S., Augsburger, H., Abé M, Ringer S, Hatz L, Braun U, 2014. Computed tomography of the thorax in calves from birth to 105 days of age. *Schweiz Arch Tierheilkd* 156, 489–97.
- Ohtsuka, T., Nomori, H., Horio, H., Naruke, T., Suemasu, K., 2004. Is major pulmonary resection by video-assisted thoracic surgery an adequate procedure in clinical stage I lung cancer? *Chest* 125, 1742–1746.
- Olivett, T., Burton, A., Bicalho, R., Nydam, D., 2011. Use of rapid thoracic ultrasonography for detection of subclinical and clinical pneumonia in dairy calves. *ProcAmAsocBovinePract Auburn* 44, 148.
- O'Neill, R., Mooney, J., Connaghan, E., Furphy, C., Graham, D.A., 2014. Patterns of detection of respiratory viruses in nasal swabs from calves in Ireland: a retrospective study. *Vet. Rec.* 175, 351–351.
- Orsini, J.A., 2002. 11th Annual ACVS Veterinary Symposium. *J. Equine Vet. Sci.* 22, 249–250.
- Padrid, P., 2000. Pulmonary diagnostics. *Vet Clin North Am Small Anim Pr.* 30, 1187–1206.
- Panciera, R.J., Confer, A.W., 2010. Pathogenesis and Pathology of Bovine Pneumonia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 191–214.
- Pardon, B., De Bleecker, K., Hostens, M., Callens, J., Dewulf, J., Deprez, P., 2012. Longitudinal study on morbidity and mortality in white veal calves in Belgium. *BMC Vet. Res.* 8, 26.
- Pardon, B., Hostens, M., Duchateau, L., Dewulf, J., De Bleecker, K., Deprez, P., 2013. Impact of respiratory disease, diarrhea, otitis and arthritis on mortality and carcass traits in white veal calves. *BMC Vet. Res.* 9, 79.
- Parrish, S., Browning, R.F., Turner, J.F.J., Zarogoulidis, K., Kougioumtzi, I., Dryllis, G., Kioumis, I., Pitsiou, G., Machairiotis, N., Katsikogiannis, N., Tsiouda, T.,

- Madesis, A., Karaikos, T., Zarogoulidis, P., 2014. The role for medical thoracoscopy in pneumothorax. *J. Thorac. Dis.* 6, S383–391.
- Patrick, R.L., 2009. A dairy producer's view of respiratory disease. *Anim. Health Res. Rev.* 10, 111–112.
- Pelaez, M.J., Jolliffe, C., 2012. Thoracoscopic foreign body removal and right middle lung lobectomy to treat pyothorax in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 53, 240–244.
- Peroni, J.F., Horner, N.T., Robinson, N.E., Stick, J.A., 2001. Equine thoracoscopy: normal anatomy and surgical technique. *Equine Vet. J.* 33, 231–237.
- Peroni, J.F., Robinson, N.E., Stick, J.A., Derksen, F.J., 2000. Pleuropulmonary and cardiovascular consequences of thoracoscopy performed in healthy standing horses. *Equine Vet. J.* 32, 280–286.
- Peyton, L.C., Hoffer, R., Calahan, P., 1976. Intrathoracic surgery in the horse with a pictorial guide to partial lobectomy. *Vet. Med. Small Anim. Clin. VM SAC* 71, 1190–1198.
- Plesman, R., Johnson, M., Rurak, S., Ambrose, B., Shmon, C., 2011. Thoracoscopic correction of a congenital persistent right aortic arch in a young cat. *Can. Vet. J.* 52, 1123.
- Pollock, P.J., Russell, T., 2006. Standing thoracoscopy in the diagnosis of lymphosarcoma in a horse. *Vet. Rec.* 159, 354–356.
- Pompeo, E., Rogliani, P., Cristino, B., Schillaci, O., Novelli, G., Saltini, C., 2013. Awake thoracoscopic biopsy of interstitial lung disease. *Ann. Thorac. Surg.* 95, 445–452.
- Ponsky, T.A., Rothenberg, S.S., 2008. Thoracoscopic lung biopsy in infants and children with endoloops allows smaller trocar sites and discreet biopsies. *J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A* 18, 120–122.
- Posthaus, H., Bodmer, T., Alves, L., Oevermann, A., Schiller, I., Rhodes, S.G., Zimmerli, S., 2011. Accidental infection of veterinary personnel with *Mycobacterium tuberculosis* at necropsy: A case study. *Vet. Microbiol.* 149, 374–380.
- Potgieter, L., McCracken, M., Hopkins FM, Walker RD, Guy JS., 1984. Use of fiberoptic bronchoscopy in experimental production of bovine respiratory tract disease. *Am. J. Vet. Res.* 45.
- Preto, A., Neves, N., 2008. New method for classification of lung lesions associated with bovine respiratory disease, in: *Procc. XXV World Buiatrics Congress. Budapest*, p. 297.
- Pringle, J., Vie L., Shewen P.E., Willoughby R.A., Martin S.W., Valli V.E., 1988. Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves: cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. *Can J Vet Res* 52, 239–48.
- Prohl, A., Ostermann, C., Lohr, M., Reinhold, P., 2014. The Bovine Lung in Biomedical Research: Visually Guided Bronchoscopy, Intrabronchial Inoculation and *in vivo* sampling techniques. *J. Vis. Exp.* 3 (89). doi:10.3791/51557
- Quandt, J.E., 1999. Anesthetic considerations for laser, laparoscopy, and thoracoscopy procedures. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 14, 50–55. doi:10.1016/S1096-2867(99)80027-9
- Qureshi, R.A., Stamenkovic, S.A., Carnochan, F.M., Walker, W.S., 2007. Video-assisted thoracoscopic lung biopsy in patients with interstitial lung disease. *Ann. Thorac. Surg.* 84, 2136–2137.
- Radhakrishnamurthy, B., Smart, F., Dalferes, E.R., Berenson, G.S., 1980. Isolation and characterization of proteoglycans from bovine lung. *J. Biol. Chem.* 255, 7575–7582.
- Radlinsky, M., 2014. Thoracoscopy in the cat: an up-and-coming diagnostic and therapeutic procedure. *J. Feline Med. Surg.* 16.

- Radlinsky, M.G., 2009. Complications and Need for Conversion from Thoracoscopy to Thoracotomy in Small Animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 39, 977–984.
- Radostits, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff, K., 2007. *Veterinary Medicine*, 10th ed. Saunders/Elsevier, New York.
- Rahman, N.M., Gleeson, F.V., 2008. Image-guided pleural biopsy. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 14, 331–336. doi:10.1097/MCP.0b013e3282fe9a04
- Rand, I.A., Du, Barber, P.V., Goldring, J., Lewis, R.A., Mandal, S., Munavvar, M., Rintoul, R.C., Shah, P.L., Singh, S., Slade, M.G., Woolley, A., 2011. British Thoracic Society guideline for advanced diagnostic and therapeutic flexible bronchoscopy in adults. *Thorax* 66 Suppl 3. doi:10.1136/thoraxjnl-2011-200713
- Raphel, C.F., Gunson, D.E., 1981. Percutaneous lung biopsy in the horse. *Cornell Vet.* 71, 439–448.
- Reef, V., Boy, M., Reid, C., Elser, A., 1991. Comparison between diagnostic ultrasonography and radiography in the evaluation of horses and cattle with thoracic disease: 56 cases (1984–1985). *J Am Vet Med Assoc* 198, 2112–2118.
- Reef, V.B., Whittier, M., Allam, L.G., 2004. Thoracic Ultrasonography. *Clin. Tech. Equine Pract.* 3, 284–293.
- Regev-Shoshani, G., McMullin, B., Nation, N., Church, J.S., Dorin, C., Miller, C., 2015. Non-inferiority of nitric oxide releasing intranasal spray compared to sub-therapeutic antibiotics to reduce incidence of undifferentiated fever and bovine respiratory disease complex in low to moderate risk beef cattle arriving at a commercial feedlot. *Prev. Vet. Med.* doi:10.1016/j.prevetmed.2015.04.008
- Reif, J.S., 1974. Lung and pleural biopsy. *Vet. Clin. North Am.* 4, 383–394.
- Reinhold, P., Rabeling, B., Günter, H., Schimmel, D., 2002. Comparative evaluation of ultrasonography and lung function testing with the clinical signs and pathology of calves inoculated experimentally with *Pasteurella multocida*. *Vet Rec* 150, 109–114.
- Reinhold, P., Smith, H.J., Langenberg, A., Lekeux, P., 1998. Measurement of respiratory impedance in healthy calves using the impulse oscillation technique—Physiological and methodological aspects. *Vet. J.* 155, 27–38.
- Relave, F., David, F., Leclère, M., Alexander, K., BussièRes, G., Lavoie, J.P., Marcoux, M., 2008. Evaluation of a Thoracoscopic Technique Using Ligating Loops to Obtain Large Lung Biopsies in Standing Healthy and Heaves-Affected Horses. *Vet. Surg.* 37, 232–240.
- Relave, F., David, F., Leclère, M., Alexander, K., Hélie, P., Meulyzer, M., Lavoie, J.P., Marcoux, M., 2010. Thoracoscopic Lung Biopsies in Heaves-Affected Horses Using a Bipolar Tissue Sealing System: Thoracoscopic Lung Biopsies in Heaves-Affected Horses. *Vet. Surg.* 39, 839–846.
- Re, M., 2012. Inmovilización del agando vacuno mediante la administración de una combinación concentrada de fenciclidinas y agonistas de los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ . Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.
- Rérat, M., Albin, S., Jaquier, V., Hüsey, D., 2012. Bovine respiratory disease: Efficacy of different prophylactic treatments in veal calves and antimicrobial resistance of isolated Pasteurellaceae. *Spec. Issue Prod. Dis. Farm Anim. 14th Int. Conf. Prod. Dis. Farm Anim. Ghent Belg. 20-24 June 2010 Ghent Belg.* 103, 265–273.
- Rezack, D.J., Thomson, D.U., Siemens, M.G., Prouty, F.L., Reinhardt, C.D., Bartle, S.J., 2014. A survey of gross pathologic conditions in cull cows at slaughter in the Great Lakes region of the United States. *J. Dairy Sci.* 97, 4227–4235. doi:10.3168/jds.2013-7636
- Rice, J.A., Carrasco-Medina, L., Hodgins, D.C., Shewen, P.E., 2007. Mannheimia haemolytica and bovine respiratory disease. *Anim. Health Res. Rev. Conf. Res. Work. Anim. Dis.* 8, 117–128.

- Rivera Barreno, R., Rodríguez Alarcón, A., Juárez Martínez J.L., Castaño Calatayud R., Talavera Hernández J., 2004. Biopsias pulmonares por toracoscopia en perros, una técnica segura y eficiente.
- Rizk, N.W., Lillington, G.A., 1995. Needle, transbronchial, thoracoscopic, or open lung biopsy in interstitial lung disease. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 1, 376–382.
- Rocca, G., Pizzorno, E., Tajana, L., Osculati, A., Ventura, F., 2014. Sudden death during medical thoracoscopy. *J. Forensic Leg. Med.* 21, 38–41.
- Rodríguez-Panadero, F., 2004. La toracoscopia hoy: indicaciones y procedimiento. *Arch Bronconeumol* 40, 49–54.
- Romero Peñuela, M., Uribe-Velasquez, L., Sánchez Valencia, J., 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en el ganado de carne. *Biosalud* 10.
- Rooney, K.A., Nutsch, R.G., Skogerboe, T.L., Weigel, D.J., Gajewski, K., Kilgore, W.R., 2005. Efficacy of tulathromycin compared with tilmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 6, 154–166.
- Rossini, K.L., 2004. Effects of calfhood respiratory and digestive disease on calfhood morbidity and first lactation production and survival rates. Virginia Tech.
- Ross, M.W., Richardson, D.W., Hackett, R.P., Tulleners, E.P., Orsini, J.A., Ohnemus, T.F., 1986. Nasal obstruction caused by cystic nasal conchae in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 857–860.
- Roudebush, P., 1990. Tracheobronchoscopy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 20, 1297–1314.
- RSPCA, 2008. Veal production. <https://www.rspca.org.uk/utilities/vealproduction>
- Russell, W., Urch, R., 1959. *The Principles of Humane Experimental Technique*.
- Samejima, J., Tajiri, M., Ogura, T., Baba, T., Omori, T., Tsuboi, M., Masuda, M., 2015. Thoracoscopic lung biopsy in 285 patients with diffuse pulmonary disease. *Asian Cardiovasc. Thorac. Ann.* 23, 191–197.
- Sanderson, M.W., Dargatz, D.A., Wagner, B.A., 2008. Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. *Can. Vet. J.* 49, 373.
- Santana Rodríguez, N., Hernández Rodríguez H, Gámez García P, Madrigal Royo L, Córdoba Peláez M, Varela Ugarte, A., 2002. Corrección videotoracoscópica mínimamente invasiva del pectus excavatum. *Arch Bronconeumol* 38, 392–395.
- Santos López, S., Espinosa-Crespo, I., Fernández Novo, A; Pérez Villalobos, N; García García, JA, 2015. Descripción de técnica toracoscópica en Toro de Lidia (*Bos Taurus*), a propósito de un caso clínico, in: Congreso Internacional de ANEMBE. Burgos.
- Sañudo, C., Jimeno, V., Cerviño López, M., 2008. Producción de ganado vacuno de carne y tipos comerciales em España. Schering-Plough, Madrid.
- Savage, C.J., Traub-Dargatz, J.L., Mumford, E.L., 1998. Survey of the large animal diplomates of the American College of Veterinary Internal Medicine regarding percutaneous lung biopsy in the horse. *J. Vet. Intern. Med. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 12, 456–464.
- Schaefer, A.L., Cook, N.J., Bench, C., Chabot, J.B., Colyn, J., Liu, T., Okine, E.K., Stewart, M., Webster, J.R., 2012a. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Res. Vet. Sci.* 93, 928–935.
- Schaefer, A.L., Cook, N.J., Church, J.S., Basarab, J., Perry, B., Miller, C., Tong, A.K.W., 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Res. Vet. Sci.* 83, 376–384.
- Scharner, D., Dorn, K., Brehm, W., 2014. Bovine thoracoscopy: Surgical technique and normal anatomy: Bovine Thoracoscopy. *Vet. Surg.* 43, 85–90.
- Schatzmann, U., Straub, R., Gerber, H., Pauli, B., 1974. Percutaneous lung biopsy in the horse. *Vet. Rec.* 94, 588–590.

- Schmiedt, C., 2009. Small Animal Exploratory Thoracoscopy. *Endoscopy* 39, 953–964.
- Schneider, M.J., Tait, R.G., Busby, W.D., Reecy, J.M., 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: Impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *J. Anim. Sci.* 87, 1821–1827.
- Schumann, F.J., Janzen, E.D., McKinnon, J.J., 1991. Prophylactic medication of feedlot calves with tilmicosin. *Vet. Rec.* 128, 278–280.
- Schumann, F.J., Janzen, E.D., McKinnon, J.J., 1990. Prophylactic tilmicosin medication of feedlot calves at arrival. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 31, 285–288.
- Schunicht, O.C., Booker, C.W., Guichon, P.T., Jim, G.K., Wildman, B.K., Hill, B.W., Ward, T.I., Bauck, S.W., 2002. An evaluation of the relative efficacy of a new formulation of oxytetracycline for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 43, 940–945.
- Scott, P.R., 2013. Clinical presentation, auscultation recordings, ultrasonographic findings and treatment response of 12 adult cattle with chronic suppurative pneumonia: case study. *Ir. Vet. J.* 66, 5.
- Scott, P.R., 2011. Treatment and Control of Respiratory Disease in Sheep. *Ther. Control Sheep Goat Dis.* 27, 175–186.
- Seethanathan, P., Radhakrishnamurthy, B., Dalferes, E.R.J., Berenson, G.S., 1975. The composition of connective tissue macromolecules from bovine respiratory system. *Respir. Physiol.* 24, 347–354.
- Seethanathan, P., Taylor, P., Ehrlich, K., 1980. A comparative study of proteoglycans from bovine lung, trachea, tracheal mucosa, and aorta. *Experientia* 36, 279–280.
- Shahriar, F.M., Clark, E.G., Janzen, E., West, K., Wobeser, G., 2002. Coinfection with bovine viral diarrhea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 43, 863–868.
- Sivula, N.J., Ames, T.R., Marsh, W.E., Werdin, R.E., 1996. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Prev. Vet. Med.* 27, 155–171.
- Skogerboe, T.L., Rooney, K.A., Nutsch, R.G., Weigel, D.J., Gajewski, K., Kilgore, W.R., 2005. Comparative efficacy of tulathromycin versus florfenicol and tilmicosin against undifferentiated bovine respiratory disease in feedlot cattle. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 6, 180–196.
- Smit, H.J., Schramel, F.M., Sutedja, T.G., Laak-Uytenhaak, L.S. Ter, Nannes-Pols, M.H., Postmus, P.E., 1998. Video-Assisted Thoracoscopy is Feasible Under Local Anesthesia. *Diagn. Ther. Endosc.* 4, 177–182.
- Smith, R.A., 2009. North American cattle marketing and bovine respiratory disease (BRD). *Anim. Health Res. Rev.* 10, 105–108. doi:10.1017/S1466252309990107
- Smith, R.A., 1998. Impact of disease on feedlot performance: a review. *J Anim Sci* 76, 272–274.
- Smith RA, Stokka GL, Radostits OM, Griffin DD, 2001. Health and production management in beef feedlots. In Radostits O, ed. *Herd Health: Food Animal Production*. WB Saunders, Philadelphia.
- Smith, R.A., Stokka, G.L., Radostits, O.M., Griffin, D.D, 2001. Health and production management in beef feedlots. In: Radostits, O.M. (Ed.), *Herd Health: Food Animal Production Medicine*. WB Saunders Company, Philadelphia.
- Snowder, G.D., 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. *J. Anim. Sci.* 84, 1999–2008.
- Soletto, M.J., Olivera, M.J., Pun, Y.W., Moreno, R., Nieto, S., Caballero, P., 2002. Hookwire localization of pulmonary nodules for video-thoroscopic surgical resection. *Arch. Bronconeumol.* 38, 406–409.

- Sowell, B.F., Branine, M.E., Bowman, J.G., Hubbert, M.E., Sherwood, H.E., Quimby, W., 1999. Feeding and watering behavior of healthy and morbid steers in a commercial feedlot. *J. Anim. Sci.* 77, 1105–1112.
- Stanton, A.L., Kelton, D.F., LeBlanc, S.J., Millman, S.T., Wormuth, J., Dingwell, R.T., Leslie, K.E., 2010. The effect of treatment with long-acting antibiotic at postweaning movement on respiratory disease and on growth in commercial dairy calves. *J. Dairy Sci.* 93, 574–581.
- Step, D.L., Engelken, T., Romano, C., Holland, B., Krehbiel, C., Johnson, J.C., Bryson, W.L., Tucker, C.M., Robb, E.J., 2007. Evaluation of three antimicrobial regimens used as metaphylaxis in stocker calves at high risk of developing bovine respiratory disease. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 8, 136–147.
- Step, D.L., Krehbiel CR, DePra HA, Cranston JJ, Fulton RW, Kirkpatrick JG, Gill DR, Payton ME, Montelongo MA, Confer AW., 2008. Effects of commingling beef calves from different sources and weaning protocols during a forty-two-day receiving period on performance and bovine respiratory disease. *J Anim Sci* 86, 3146–58.
- Stöber, M., 2005. Enfermedades de bronquios y pulmones. En Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. *Medicina interna y cirugía del bovino*, 4<sup>a</sup> ed. Inter-medica, Buenos Aires.
- Stoica, S.C., Walker, W.S., 2000. Video assisted thoracoscopic surgery. *Postgrad. Med. J.* 76, 547–550.
- Stratton, C.W., 1988. The problem of selecting antimicrobial agents before (or without) the results of susceptibility testing. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 9, 559–561.
- Streeter, R.N., Step, D.L., 2007. Diagnostic Ultrasonography in Ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 23, 541–574.
- Sullivan, L., Massaro, J., D'Agostino, R., 2004. Presentation of multivariate data for clinical use: the Framingham Study risk score functions. *Stat. Med.* 23, 1631–1660.
- Sweiger, S.H., Nichols, M.D., 2010. Control Methods for Bovine Respiratory Disease in Stocker Cattle. *Bov. Respir. Dis.* 26, 261–271. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.008
- Sydler, T., Braun, U., Estermann, U., Pospischil, A., 2004. A Comparison of Biopsy and Post-mortem Findings in the Lungs of Healthy Cows. *J. Vet. Med. Ser. A* 51, 184–187.
- Tassi, G.F., Davies, R.J.O., Noppen, M., 2006. Advanced techniques in medical thoracoscopy. *Eur. Respir. J.* 28, 1051–1059.
- Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L., Confer, A.W., 2010a. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *Can. Vet. J.* 51, 1095.
- Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L., Confer, A.W., 2010b. The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures? *Can. Vet. J.* 51, 1351.
- Taylor, J.D., Holland, B.P., Step, D.L., Payton, M.E., Confer, A.W., 2015. Nasal isolation of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* as predictors of respiratory disease in shipped calves. *Res. Vet. Sci.* 99, 41–45.
- Tazelaar, H.D., Nilsson, F.N., Rinaldi, M., Murtaugh, P., McDougall, J.C., McGregor, C.G., 1993. The sensitivity of transbronchial biopsy for the diagnosis of acute lung rejection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 105, 674–678.
- Tegtmeier, C., Angen, O., Ahrens, P., 2000. Comparison of bacterial cultivation, PCR, in situ hybridization and immunohistochemistry as tools for diagnosis of *Haemophilus somnus* pneumonia in cattle. *Vet Microbiol* 76, 385–94.
- Tharwat, M., Oikawa, S., 2011. Ultrasonographic evaluation of cattle and buffaloes with respiratory disorders. *Trop Anim Health Prod* 43, 803–810.
- Theurer, M.E., Anderson, D.E., White, B.J., Miesner MD, Mosier DA, Coetzee J.F., Lakritz J., Amrine D.E., 2013. Effect of *Mannheimia haemolytica* pneumonia on

- behavior and physiologic responses of calves during high ambient environmental temperatures. *J Anim Sci* 91, 3917–29.
- Theurer, M.E., White, B.J., Renter, D.G., 2015. Optimizing Feedlot Diagnostic Testing Strategies Using Test Characteristics, Disease Prevalence, and Relative Costs of Misdiagnosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*
- Theurer, M., White, B., Larson R.L., Schroeder TC., 2015. A stochastic model to determine the economic value of changing diagnostic test characteristics for identification of cattle for treatment of bovine respiratory disease. *J Anim Sci* 93, 1398–410.
- Thiry, J., Gonzalez-Martín, J.V., Elvira, L., Pagot, E., Voisin, F., Lequeux, G., Weingarten, A., de Haas, V., 2014. Treatment of naturally occurring bovine respiratory disease in juvenile calves with a single administration of a florfenicol plus flunixin meglumine formulation. *Vet. Rec.* 174, 430–430.
- Thomas, A., Dizier, I., Trolin A., Mainil J., Linden A., 2002. Comparison of sampling procedures for isolating pulmonary mycoplasmas in cattle. *Vet Res Commun* 26, 333–9.
- Thomas, L., Stott, E., Collins A.P., Jebbett N.J., Stark A.J., 1977. Evaluation of respiratory disease in calves: comparison of disease response to different viruses. *Res. Vet. Sci.* 157–164.
- Thompson, P., Stone, A., Schultheiss, W., 2006. Use of treatment records and lung lesion scoring to stimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *J Anim Sci* 84, 488–498.
- Thornton, L. 2010. Livestock production: recent trends, future prospects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 27, 2853–67.
- Timsit, E., Assié, S., Quiniou, R., Seegers, H., Bareille, N., 2011. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. *Vet. J.* 190, 136–142.
- Trevisi, E., Zecconi, A., Cogrossi, S., Razzuoli, E., Grossi, P., Amadori, M., 2014. Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. *Res. Vet. Sci.* 96, 229–233.
- Tukey, M.H., Wiener, R.S., 2012. Population-based estimates of transbronchial lung biopsy utilization and complications. *Respir. Med.* 106, 1559–1565.
- Tyler, J., Cullor JS, 1989. Titers, tests, and truisms: Rational interpretation of diagnostic serologic testing. *J Am Vet Med Assoc* 194, 1550–1558.
- Uetake, K., Ishiwata, T., Tanaka, T., Sato, S., 2009. Physiological responses of young cross-bred calves immediately after long-haul road transportation and after one week of habituation. *Anim. Sci. J. Nihon Chikusan Gakkaiho* 80, 705–708.
- USDA, 1999. USDA. Part III: health management and biosecurity in US feedlots. <http://www.aphis.usda.gov/...health/.../feedlot/.../feedlot99/>
- Uystepuyst, C., Coghe, J., Bureau, F., Lekeux, P., 2000. Evaluation of Accuracy of Pulse Oximetry in Newborn Calves. *Vet. J.* 159, 71–76.
- Vachon, A.M, Fischer, A.T, 1998. Thoracoscopy in the horse: diagnostic and therapeutic indications in 28 cases. *Equine Vet J* 30, 467–475.
- Van Biervliet, J., Kraus, M., Woodie, B., Divers, T.J., Gelzer, A., Ainsworth, D., 2006a. Thoracoscopic pericardiotomy as a palliative treatment in a cow with pericardial lymphoma. *J. Vet. Cardiol.* 8, 69–73. doi:10.1016/j.jvc.2005.08.001
- Van der Mei, J., Van den Ingh, T.S., 1987. Lung and pleural lesions of veal calves at slaughter and theis relationship with carcass weight. *Vet Q* 9, 203–207.
- Van Donkersgoed, J., 1992. Meta-analysis of field trials of antimicrobial mass medication for prophylaxis of bovine respiratory disease in feedlot cattle. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 33, 786–795.
- Van Donkersgoed, J., Berg, J., Hendrick, S., 2008a. Comparison of florfenicol and tulathromycin for the treatment of undifferentiated fever in Alberta feedlot calves. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 9, 275–281.



- Van Donkersgoed, J., Merrill, J., Hendrick, S., 2008b. Comparative efficacy of tilmicosin versus tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot calves at moderate risk for respiratory disease. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 9, 291–297.
- Van Donkersgoed, J., van den Hurk, J.V., McCartney, D., Harland, R.J., 1991. Comparative serological response in calves to eight commercial vaccines against infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza-3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhoea viruses. *Can. Vet. J.* 32, 727.
- Van Schil, P., Van Meerbeeck, J., Vanmaele, R., Eyskens, E., 1996. Role of thoracoscopy (VATS) in pleural and pulmonary pathology. *Acta Chir. Belg.* 96, 23–27.
- Varela, G., Fundación Española de la Nutrición, 2001. La carne de vacuno en la alimentación humana. Fundación Española de la Nutrición, etc., Madrid.
- Venner, M., Schmidbauer, S., Drommer, W., Deegen, E., 2006. Percutaneous lung biopsy in the horse: comparison of two instruments and repeated biopsy in horses with induced acute interstitial pneumopathy. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 968–973.
- Verhoeff, J., Wierda, A., 1983. Use of blood from arterialised capillaries in the ears of calves for the analysis of pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH and bicarbonate. *Res. Vet. Sci.* 35, 124–126.
- Vestweber, G., Guffy, M., Kelly, B., Leipold, H., 1977. Chronic bronchopneumonia in cattle. *Bov. Pract.* 55, 55–62.
- Vogel, G.J., Laudert, S.B., Zimmermann, A., Guthrie, C.A., Mechor, G.D., Moore, G.M., 1998. Effects of tilmicosin on acute undifferentiated respiratory tract disease in newly arrived feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212, 1919–1924.
- Vohra, H.A., Adamson, L., Weeden, D.F., 2008. Does video-assisted thoracoscopic pleurectomy result in better outcomes than open pleurectomy for primary spontaneous pneumothorax? *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 7, 673–677.
- Wahidi, M.M., Rocha, A.T., Hollingsworth, J.W., Govert, J.A., Feller-Kopman, D., Ernst, A., 2005. Contraindications and safety of transbronchial lung biopsy via flexible bronchoscopy. A survey of pulmonologists and review of the literature. *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.* 72, 285–295.
- Walsh, P.J., Remedios, A.M., Ferguson, J.F., Walker, D.D., Cantwell, S., Duke, T., 1999. Thoracoscopic versus open partial pericardectomy in dogs: comparison of postoperative pain and morbidity. *Vet. Surg.* VS 28, 472–479.
- Warner, D.O., Warner, M.A., Divertie, M.B., 1988. Open lung biopsy in patients with diffuse pulmonary infiltrates and acute respiratory failure. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137, 90–94.
- Watts, J.L., Sweeney, M.T., 2010. Antimicrobial Resistance in Bovine Respiratory Disease Pathogens: Measures, Trends, and Impact on Efficacy. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 79–88.
- Wei, S., Sun, K., Zhang, R., Zhang, D., Cheng, G., 2004. Thoracoscopy and thoracotomy for lung biopsy and wedge resection in solitary pulmonary nodule. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi Chin. J. Lung Cancer* 7, 347–350.
- Welsh, R.D., Dye, L.B., Payton, M.E., Confer, A.W., 2004. Isolation and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens from bovine pneumonia: 1994–2002. *J. Vet. Diagn. Investig. Off. Publ. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn. Inc* 16, 426–431.
- West, K., Bodgan, J., 1998. A comparison of diagnostic methods for the detection of bovine respiratory syncytial virus in experimental clinical specimens. *Can J Vet Res* 62, 245–50.
- White, B.J., Renter, D.G., 2009. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 446–453.
- Wildman, B., Schunicht, O., 2000. The use of computer imaging technology to facilitate the capture of feedlot necropsy information. *Can Vet J* 41, 124–5.

- Willoughby, K., Thomson, K., Maley, M., Gilray, J., Scholes, S., Howie, F., Caldow, G., Nettleton, P.F., 2008. Development of a real time reverse transcriptase polymerase chain reaction for the detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples and its comparison with immunohistochemistry and immunofluorescence antibody testing. *Vet. Microbiol.* 126, 264–270.
- Wittum T.E., Woollen N.E., Perino L.J., Littledike E.T., 1996. Relationships among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter and rate of weight gain in feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc* 209, 814–818.
- Wolfger, B., Schwartzkopf-Genswein, K.S., Barkema, H.W., Pajor, E.A., Levy, M., Orsel, K., 2015. Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems. *J. Anim. Sci.* 93, 377–385.
- Wolfger, B., Timsit, E., White, B.J., Orsel, K., 2015. A Systematic Review of Bovine Respiratory Disease Diagnosis Focused on Diagnostic Confirmation, Early Detection, and Prediction of Unfavorable Outcomes in Feedlot Cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* doi:10.1016/j.cvfa.2015.05.005
- Woolums, A.R., 2015. Diseases of the respiratory system. In: Smith, BP. *Large animal internal medicine*, 5th ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- World Health Organization, 2000. WHO Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Report of a WHO Consultation with the Participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the Office International des Epizooties, Geneva, Switzerland, 5–9 June 2000. WHO, Geneva. [http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO\\_CDS\\_CSRAPH\\_2000.4.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_CDS_CSRAPH_2000.4.pdf), n.d.
- World Organisation for Animal Health, World Health Organization, and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004. Joint FAO/OIE/WHO 2nd Workshop on Non-human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Management Options, 15–18 March 2004, Oslo, Norway. Available at <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/exec.pdf>, n.d.
- Youmans, C.R.J., Middleton, J.M., Derrick, J.R., Moretti, L.B., Assor, D., 1968. Percutaneous needle biopsy of the lung for diffuse parenchymal disease. *Dis. Chest* 54.
- Young, C., 1995. Antimicrobial metaphylaxis for undifferentiated bovine respiratory disease, in: *Compend Contin Educ Pract Vet.* pp. 133–142.
- Yousem, S.A., Faber, C., 2011. Histopathology of aspiration pneumonia not associated with food or other particulate matter: a clinicopathologic study of 10 cases diagnosed on biopsy. *Am. J. Surg. Pathol.* 35, 426–431.
- Yutaka, Y., Katakura, H., Kaneda, S., Yamanaka, A., 2012. Local anaesthetic thoracoscopy for intractable pneumothorax in a high-risk patient. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 15, 330–331.
- Zaraca, F., Ebner, H., 2006. Video-assisted thoracoscopic biopsy in the diagnosis of idiopathic interstitial lung disease. *Chir. Ital.* 58, 569–576.



**ANEXOS**



## ANEXOS

A continuación se adjuntan las publicaciones o comunicaciones científicas derivadas del trabajo de esta Tesis Doctoral:

- 📖 González-Martín J.V Elvira-Partida L., **Pérez-Villalobos N**, Villarroel-Neri R., Cerviño López M., Gutiérrez JM., Calvo López-Guerrero E. Estudio comparativo de la metafilaxia parcial con florfenicol basada en la temperatura frente a la metafilaxia en masa con tulatromicina en la prevención del síndrome respiratorio bovino (SRB) y sobre los índices productivos en un sistema de cebo español. Comunicación oral. XIV *Spanish International Bovine Medicine Congress*. ANEMBE, 2009. La Coruña.
  
- 📖 González-Martín J.V., Elvira L., CerviñoLópez M., **Pérez-Villalobos N**, CalvoLópezGuerrero E., Astiz S.: Reducing antibiotic use: Selective metaphylaxis with florfenicol in comercial feedlots. *Livestock Science* 2011, 141: 173-181.
  
- 📖 Espinosa Crespo I, Sampayo Cabrera J, Orello Frades M, Villaescusa Fernández A, Calleja Bueno L, **Pérez-Villalobos N**. Toracosopia en terneros con síndrome respiratorio bovino en condiciones de campo: descripción de la técnica y posibles aplicaciones prácticas. XVIII *Spanish International Bovine Medicine Congress*. ANEMBE, 2013. Lérida.
  
- 📖 **Pérez-Villalobos N**; Espinosa-Crespo I; Sampayo-Cabrera J; González-Martin JV; González-Bulnes A; Astiz S. THORACOSCOPY: an innovative approach to Bovine Respiratory Disease in calves. Description of the technique in diseased animals. *World Buiatrics Congress*, 2014. Cairns (Australia).
  
- 📖 Espinosa Crespo I, Texeira Justo C., Sacristán Álvarez S, Ordis Pla P, **Pérez-Villalobos N**. Case report. Lung thoracoscopy-guided biopsy in a suckling calf. XIX *Spanish International Bovine Medicine Congress*. ANEMBE, 2014. Oviedo.
  
- 📖 **Pérez-Villalobos N**; Espinosa-Crespo I; González Fernández J, Casademunt Garre S; González Bulnes A; González Martín JV; S; Astiz, “Estudio posmortem de la pleura visceral en el ganado bovino y su aplicación práctica en la biopsia pulmonar mediante toracosopia”. *Spanish International Bovine Medicine Congress*. ANEMBE, 2015. Burgos.
  
- 📖 Santos López S; Espinosa-Crespo I; Fernández Novo A; **Pérez-Villalobos N**; García García JA. “Descripción d ela técnica de toracosopia en Toro de Lidia, a propósito de un caso clínico de pericarditis traumática. *Spanish International Bovine Medicine Congress*. ANEMBE, 2015. Burgos.



Luis Miguel Cebrián Yagüe, presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora presidente del comité científico.

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XIV Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos de La Coruña los días 7 y 8 de mayo de 2009 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **"ESTUDIO COMPARATIVO DE LA METAFILAXIA PARCIAL CON FLORFENICOL BASADA EN LA TEMPERATURA FRENTE A LA METAFILAXIA EN MASA CON TULATROMICINA EN LA PREVENCIÓN DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO (SRB) Y SOBRE LOS ÍNDICES PRODUCTIVOS EN UN SISTEMA DE CEBO ESPAÑOL"** en el que figuran como autores **J.V. González Martín, L. Elvira Partida, N. Pérez Villalobos, R., Villarroel Neri, M. Cerviño López, J. M. Gutiérrez<sup>4</sup> y E. Calvo López-Guerrero**

Y para que conste, se expide el presente certificado en La Coruña, a 8 de mayo de 2.009.

**EL Presidente de ANEMBE**



**Luis Miguel Cebrián Yagüe**

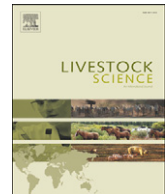
**El Presidente del Comité científico**



**Luis Miguel Ortega Mora**







## Reducing antibiotic use: Selective metaphylaxis with florfenicol in commercial feedlots

J.V. González-Martín <sup>a,b,\*</sup>, L. Elvira <sup>a</sup>, M. Cerviño López <sup>c,1</sup>, N. Pérez Villalobos <sup>a</sup>,  
E. Calvo López-Guerrero <sup>c</sup>, S. Astiz <sup>c,2</sup>

<sup>a</sup> TRIALVET S.L., C/Encina, 22, 2872 Cabanillas de la Sierra, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Animal Medicine and Surgery Dept., Veterinary Faculty of Madrid (UCM), Avda Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain

<sup>c</sup> Intervet Schering-Plough A.H. Spain, C/Cantabria, N°2, Edificio Amura, 28108 Alcobendas, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 February 2011

Received in revised form 23 May 2011

Accepted 26 May 2011

#### Keywords:

Beef

Florfenicol

Metaphylactic use

Bovine respiratory disease

Reduced antibiotic use

### ABSTRACT

Bovine respiratory disease (BRD) is the main disease in beef production. Mass antibiotic treatment of high-risk calves at feedlot entry, a practice called metaphylaxis, is one of the most common tools to fight this disease. However, there is a growing tendency to minimize the use of antibiotics in food-producing animals.

To develop a clinically based use of antibiotics, two experiments evaluated selective metaphylaxis with florfenicol (Nuflor®, Intervet-Schering-Plough S.A., Boxmeer, Holland) administered to calves with a rectal temperature  $\geq 39.7$  °C (HT-calves).

In the first experiment, 287 calves at high risk for BRD were randomly allocated to one of four experimental groups in a multi-site study: HT-calves with florfenicol metaphylaxis (FHT), HT-calves without metaphylaxis (CHT), calves with a rectal temperature  $< 39.7$  °C (LT-calves) with florfenicol metaphylaxis (FLT), and LT-calves without metaphylaxis (CLT). BRD incidence, average daily weight gain (ADG) and feed intake were recorded for 30 days. Respiratory symptoms were recorded in control calves to identify possible criteria to guide selective metaphylaxis.

In the second experiment, 114 high-risk calves were randomly allocated to two groups: in the FSM group, selective metaphylaxis with florfenicol<sup>3</sup> was carried out in calves with a rectal temperature  $\geq 39.7$  °C (10/57 calves, 17.5%); in the TMM group, mass metaphylaxis with tulathromycin<sup>4</sup> was carried out on all calves. BRD incidence, ADG, feed conversion, dressing percentage and lung lesions were monitored until slaughter. In the first experiment, we found no significant difference between FLT and CLT calves in BRD incidence (21.4% vs. 27.7%;  $P = 0.33$ ) or ADG (1.16 vs. 1.21 kg/day;  $P = 0.46$ ), or between FHT and CHT calves in BRD incidence (36.6% vs. 52.6%;  $P = 0.24$ ) or ADG (1.02 vs. 0.99;  $P = 0.83$ ). Of all the clinical characteristics measured, only rectal temperature  $\geq 39.7$  °C was found to be significantly useful ( $P = 0.02$ ) as a selection criterion for metaphylaxis.

In the second experiment, no significant differences were found between FSM and TMM groups in BRD incidence (24.6 vs. 28.1%;  $P = 0.67$ ), ADG ( $1.29 \pm 0.17$  vs.  $1.34 \pm 0.18$  kg/day;  $P = 0.57$ ), feed conversion ( $5.35 \pm 0.36$  vs.  $5.34 \pm 0.27$  kg;  $P = 0.96$ ), dressing percentage (48.61 vs.

\* Corresponding author at: Dept. of Animal Medicine and Surgery, Veterinary Faculty of Madrid (UCM), Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain. Tel.: +34 677 41 49 52; fax: +34 91 843 91 56.

E-mail addresses: [juanvi@vet.ucm.es](mailto:juanvi@vet.ucm.es) (J.V. González-Martín), [trialvet@gmail.com](mailto:trialvet@gmail.com) (L. Elvira), [manuel.cervino@boehringer-ingenheim.com](mailto:manuel.cervino@boehringer-ingenheim.com) (M. Cerviño López), [enrique.calvo@sp.intervet.com](mailto:enrique.calvo@sp.intervet.com) (E. Calvo López-Guerrero), [astiz.susana@inia.es](mailto:astiz.susana@inia.es) (S. Astiz).

<sup>1</sup> Present address: Boehringer Ingelheim España S.A., División Veterinaria, C/Prat de la Riba, s/n, Sector TuróCan Matas, 08173 Sant Cugat del Vallés, Barcelona, Spain.

<sup>2</sup> Present address: Dpto. Reproducción Animal (INIA), Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain.

<sup>3</sup> Nuflor®, Intervet Schering-Plough AH.

<sup>4</sup> Draxxin®, Pfizer AH.



Luis Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XVIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palau de Congresos de Lleida los días 25 y 26 de abril de 2013 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **"TORACOSCOPIA EN TERNEROS CON SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO EN CONDICIONES DE CAMPO: DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA Y POSIBLES APLICACIONES PRÁCTICAS"** en el que figuran como autores *Espinosa Crespo I, Sampayo Cabrera J, Orello Frades M, Villaescusa Fernández A, Calleja Bueno L, Pérez Villalobos N.*

Y para que conste, se expide el presente certificado en Lleida, a 25 de abril de 2013.

**EL Presidente de ANEMBE**

*Luis Miguel Cebrián Yagüe*

**El Presidente del Comité Científico**

*Luis Miguel Ortega Mora*

**Secretaría de ANEMBE**

Av. Fundación Príncipe de Asturias 7, 5º D  
33012 OVIEDO - Asturias

Tel.: +34 985 20 63 16  
Fax: +34 985 96 45 69

anembe@anembe.com  
www.anembe.com

**Presidente**  
Luis Miguel Cebrián  
presidente@anembe.com

**Vicepresidente**  
Luis Miguel Jiménez  
vicepresidente@anembe.com



## General Medicine &amp; Surgery

**THORACOSCOPY: an innovative approach to Bovine Respiratory Disease in calves. Description of the technique in diseased animals**

Perez-Villalobos, N<sup>1</sup>; Espinosa-Crespo, I<sup>2</sup>; Sampayo-Cabrera, J<sup>3</sup>; Gonzalez-Martin, JV<sup>4,1</sup>; Gonzalez-Bulnes, A<sup>5</sup>; Astiz, S<sup>5,\*</sup>

1-TRIALVET SL, Madrid, Spain

2-Practitioner, Madrid, Spain

3-VES SL, Madrid, Spain

4-University of Madrid, Madrid, Spain

5-INIA, Madrid, Spain

**Objectives:** Bovine respiratory disease (BRD) is one of the leading causes of losses in the beef and dairy industry; and it is a major health issue in replacement dairy calves. Most ultrasound studies used "lung consolidation" as a predictor index but with some limitations. Thoracoscopy is a minimally invasive diagnostic and therapeutic technique that allows the access to the thoracic cavity and the assessment of intrathoracic pathologies. The aim of our study was to demonstrate that thoracoscopy in diseased cattle is a safe diagnostic technique that can be performed under field conditions (experiment 1). Our second target was to describe the optimal surgical approach and equipment to execute the technique safely and with minimal painless (experiment 2).

**Methods:** We performed 24 thoracoscopies in 19 different calves over 2 experiments. In the first experiment, we conducted six thoracoscopies in three chronic BRD Holstein calves at the Faculty of Veterinary of Madrid with a rigid unit; In experiment 2, in addition a total of 18 thoracoscopies were performed in 16 Holstein or beef cross breeds with flexible endoscopy and/or industrial videoscopes at the Faculty of Veterinary of Madrid and in commercial feedlots.

**Results:** Experiment 1: The pain-score in the calves were moderate during the surgical interventions in 5/6 cases and the recovery time lapse was less than one hour in all cases. Technique repetitions were performed 22 days later in the same three animals to evidence the probability of complications and technique-derived lesions. No complications were observed in any animal. All the animals increased their body weight in the following days after the first surgery (ADG 250-728gr), the survival rate was 100% and no fibrinogen increase was detected. Experiment 2: the -visualization area of the cranial lobes depended directly of the approach. Although we only perforated one lung, we detected the risk of lung perforation was higher the more ventrally the approach incision was. We evidenced BRD lesions in 79% of animals. Nearly 70% of calves with chronic lesions presented adhesions and 77% presented acute lesions.

**Conclusions:** Our work demonstrates that thoracoscopy is an easy and secure technique to be performed on the field, on BRD affected calves and that is an interesting diagnostic and prognostic tool.

**Meningoencephalocele in a calf - case report**

Madureira, KM<sup>1</sup>; Muramoto, C<sup>1</sup>; Barbosa, VF<sup>1</sup>; Ayres, MCC<sup>1,1</sup>; Matos, PF<sup>1</sup>; Casagrande, FP<sup>1</sup>; Lima, MCC<sup>1</sup>; Ribeiro Filho, CHA<sup>1</sup>; Requião, K<sup>2</sup>; Requião, JG<sup>2</sup>

1-Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

2-Veterinary Medical Services, Salvador, Bahia, Brazil

**Objectives:** The aim of this abstract was to report a case of congenital meningoencephalocele in a Nelore breed heifer, female, two days old attended at the Veterinary Hospital of the Federal University of Bahia, Brazil, on July 25, 2013.

**Methods:** An animal born from an in vitro fertilization presented a swelling on the dorsal part of the head, dorsally to the frontal bone with no pain evidence. Physical examination revealed a swelling with 14,5 length by 9,5 height by 9,5cm width which produced unstableness, hair rarefaction and ulcerations of the skin. A fluctuant appearance was detected on palpation and no aspiration was made to avoid infection risk and fluid extravasation. Ultrasonography (Nemio, Toshiba<sup>®</sup>) revealed anechogenic fluid with small echogenic points (low density) into the swelling, in continuity to the cerebrospinal fluid (CSF) intermingled to some cerebral circumvolutions. It was found a frontal bone fontanel enlargement, from where herniate a little part of the dorsal margin of the encephalon, transpassing 0,86cm from the surface of the braincase. Through ultrasonographic examination it was not possible to determine fontanel measures, being just estimated. Computadorized tomography (Asteion, Toshiba<sup>®</sup>), with 2mm slice thickness showed that the frontal bone fontanel enlargement reached the parietal bone and had irregular oval shape (5,4cm length by 2,5cm width on caudal, 1,9cm on median, 2,2cm on cranial and 0,55cm on utmost cranial point portions. The content found inside the swelling presented soft tissue attenuation similar to the lateral ventricular CSF (between -10 and 13 Hounsfield Units - HU). The brain protrusion (between 14 and 42 HU) measured a maximum of 0,8cm height over the dorsal surface of the frontal bone.

**Results:** Meningoencephalocele diagnosis could be confirmed with the aid of imaging exams. The animal was referred for corrective surgery in August 14. Under general anesthesia with isoflurane, an elliptical skin incision was made, tissues was separated of the skin by blunt dissection and excess of liquor was drained with sterile needle and syringe. With the drainage of liquor the protruded part of the brain returned to normal position. There was dilatation and resection of excess skin and approach of external tissues to the cranial vault and subsequent sutured. After surgery daily physical exam was done and intramuscular injections of ceftiofur were given for seven days. Skin sutures were removed 14 days after surgery and during 30 days no abnormalities associated with the surgical procedure or relapse of meningoencephalocele were observed. The calf returned to her place of origin thirty days after surgery and did not express any change linked to this illness change in the last six months.

**Conclusions:** Meningoencephalocele is a rare congenital anomaly, and it should be diagnosed properly, so that the therapeutic possibilities and prognosis can be defined. Imaging tests, such as ultrasound and particularly the computed tomography, was of fundamental importance in the diagnostic, once classified the illness as meningoencephalocele and defined the diameter of the congenital defect before surgery.

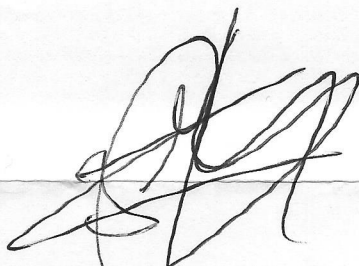


Luís Miguel Cebrian Yagüe, President of the Spanish National Association of Buiatrics (A.N.E.M.B.E.) and Luís Miguel Ortega Mora, President of the Scientific Committee

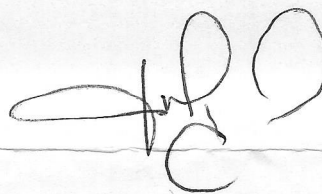
## CERTIFY

That during the XIX ANEMBE International Bovine Medicine Congress – IX ECBHM Symposium held at the “Principe Felipe” Oviedo Auditorium on June 26<sup>th</sup>, 27<sup>th</sup> 2014 the work entitled “CASE REPORT. LUNG THORACOSCOPY-GUIDED BIOPSY IN A SUCKLING CALF” was presented by *Espinosa Crespo I1, Texeira Justo C2., Sacristán Álvarez S2, Ordis Pla P3, Pérez Villalobos N2.*

Oviedo June 26<sup>th</sup> 2014



**Luís Miguel Cebrian Yagüe**  
President  
Spanish National Association for Buiatrics



**Luís Miguel Ortega Mora**  
President of ANEMBE's  
Scientific Committee





Luís Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luís Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos - Auditorio "Fórum Evolución" de Burgos los días 7 y 8 de mayo de 2015 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **"Estudio *postmortem* de la pleura visceral en el ganado bovino y su aplicación práctica en la biopsia pulmonar mediante toracoscopia"** en el que figuran como autores *N. Pérez Villalobos<sup>1</sup>, I. Espinosa Crespo<sup>2</sup>, J. González Fernández<sup>5</sup>, S. Casademunt Garre<sup>6</sup>, A. González-Bulnes<sup>4</sup>, J.V. González Martín<sup>1,3</sup>, S. Astiz Blanco<sup>4</sup>*

Y para que conste, se expide el presente certificado en Burgos, a 7 de mayo de 2015.

**EL Presidente de ANEMBE**

**El Presidente del Comité Científico**

  
**Luís Miguel Cebrián Yagüe**

  
**Luís Miguel Ortega Mora**

Secretaría de ANEMBE  
Av. Fundación Príncipe de Asturias 7, 5º D  
33012 OVIEDO - Asturias

Tel.: +34 985 20 83 16  
Fax: +34 985 96 45 69

anembe@anembe.com  
www.anembe.com

Presidente  
Luís Miguel Cebrián  
presidente@anembe.com

Vicepresidente  
Luis Miguel Jiménez  
vicepresidente@anembe.com



Luis Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos - Auditorio "Fórum Evolución" de Burgos los días 7 y 8 de mayo de 2015 se ha presentado en forma de póster el trabajo "**Descripción de técnica de toracoscopia en toro de lidia (*bos taurus*), a propósito de un caso clínico de pericarditis traumática**" en el que figuran como autores *S. Santos-López<sup>1</sup>; I. Espinosa Crespo<sup>1</sup>; A. Fernández Novo<sup>1</sup>; N. Pérez-Villalobos<sup>2</sup>; JA. García García<sup>3</sup>*

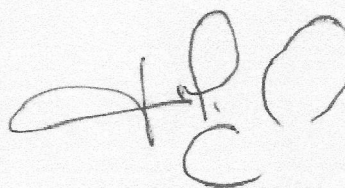
Y para que conste, se expide el presente certificado en Oviedo, a 7 de mayo de 2015.

**EL Presidente de ANEMBE,**

**El Presidente del Comité Científico**



**Luis Miguel Cebrián Yagüe**



**Luis Miguel Ortega Mora**



Luis Miguel Cebrián Yagüe, presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora presidente del comité científico.

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XIV Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos de La Coruña los días 7 y 8 de mayo de 2009 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA METAFILAXIA PARCIAL CON FLORFENICOL BASADA EN LA TEMPERATURA FRENTE A LA METAFILAXIA EN MASA CON TULATROMICINA EN LA PREVENCIÓN DEL SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO (SRB) Y SOBRE LOS ÍNDICES PRODUCTIVOS EN UN SISTEMA DE CEBO ESPAÑOL”** en el que figuran como autores **J.V. González Martín, L. Elvira Partida, N. Pérez Villalobos, R., Villarroel Neri, M. Cerviño López, J. M. Gutiérrez<sup>4</sup> y E. Calvo López-Guerrero**

Y para que conste, se expide el presente certificado en La Coruña, a 8 de mayo de 2.009.

**EL Presidente de ANEMBE**



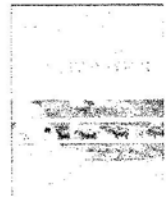
**Luis Miguel Cebrián Yagüe**

**El Presidente del Comité científico**



**Luis Miguel Ortega Mora**





## Reducing antibiotic use: Selective metaphylaxis with florfenicol in commercial feedlots

J.V. González-Martín<sup>a,b,\*</sup>, L. Elvira<sup>a</sup>, M. Cerviño López<sup>c,1</sup>, N. Pérez Villalobos<sup>a</sup>,  
E. Calvo López-Guerrero<sup>c</sup>, S. Astiz<sup>c,2</sup>

<sup>a</sup> TRIALVET S.L., C/Encina, 22, 2872 Cabanillas de la Sierra, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Animal Medicine and Surgery Dept., Veterinary Faculty of Madrid (UCM), Avda Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain

<sup>c</sup> Intervet Schering-Plough A.H. Spain, C/Cantabria, N°2, Edificio Amura, 28108 Alcobendas, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 February 2011

Received in revised form 23 May 2011

Accepted 26 May 2011

#### Keywords:

Beef

Florfenicol

Metaphylactic use

Bovine respiratory disease

Reduced antibiotic use

### ABSTRACT

Bovine respiratory disease (BRD) is the main disease in beef production. Mass antibiotic treatment of high-risk calves at feedlot entry, a practice called metaphylaxis, is one of the most common tools to fight this disease. However, there is a growing tendency to minimize the use of antibiotics in food-producing animals.

To develop a clinically based use of antibiotics, two experiments evaluated selective metaphylaxis with florfenicol (Nuflon®, Intervet-Schering-Plough S.A., Boxmeer, Holland) administered to calves with a rectal temperature  $\geq 39.7$  °C (HT-calves).

In the first experiment, 287 calves at high risk for BRD were randomly allocated to one of four experimental groups in a multi-site study: HT-calves with florfenicol metaphylaxis (FHT), HT-calves without metaphylaxis (CHT), calves with a rectal temperature  $< 39.7$  °C (LT-calves) with florfenicol metaphylaxis (FLT), and LT-calves without metaphylaxis (CLT). BRD incidence, average daily weight gain (ADG) and feed intake were recorded for 30 days. Respiratory symptoms were recorded in control calves to identify possible criteria to guide selective metaphylaxis.

In the second experiment, 114 high-risk calves were randomly allocated to two groups: in the FSM group, selective metaphylaxis with florfenicol<sup>3</sup> was carried out in calves with a rectal temperature  $\geq 39.7$  °C (10/57 calves, 17.5%); in the TMM group, mass metaphylaxis with tulathromycin<sup>4</sup> was carried out on all calves. BRD incidence, ADG, feed conversion, dressing percentage and lung lesions were monitored until slaughter. In the first experiment, we found no significant difference between FLT and CLT calves in BRD incidence (21.4% vs. 27.7%;  $P=0.33$ ) or ADG (1.16 vs. 1.21 kg/day;  $P=0.46$ ), or between FHT and CHT calves in BRD incidence (36.6% vs. 52.6;  $P=0.24$ ) or ADG (1.02 vs. 0.99;  $P=0.83$ ). Of all the clinical characteristics measured, only rectal temperature  $\geq 39.7$  °C was found to be significantly useful ( $P=0.02$ ) as a selection criterion for metaphylaxis.

In the second experiment, no significant differences were found between FSM and TMM groups in BRD incidence (24.6 vs. 28.1%;  $P=0.67$ ), ADG ( $1.29 \pm 0.17$  vs.  $1.34 \pm 0.18$  kg/day;  $P=0.57$ ), feed conversion ( $5.35 \pm 0.36$  vs.  $5.34 \pm 0.27$  kg;  $P=0.96$ ), dressing percentage (48.61 vs.

\* Corresponding author at: Dept. of Animal Medicine and Surgery, Veterinary Faculty of Madrid (UCM), Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain. Tel.: +34 677 41 49 52; fax: +34 91 843 91 56.

E-mail addresses: [juanvi@vet.ucm.es](mailto:juanvi@vet.ucm.es) (J.V. González-Martín), [trialvet@gmail.com](mailto:trialvet@gmail.com) (L. Elvira), [manuel.cervino@boehringer-ingenelheim.com](mailto:manuel.cervino@boehringer-ingenelheim.com) (M. Cerviño López), [enrique.calvo@sp.intervet.com](mailto:enrique.calvo@sp.intervet.com) (E. Calvo López-Guerrero), [astiz.susana@inia.es](mailto:astiz.susana@inia.es) (S. Astiz).

<sup>1</sup> Present address: Boehringer Ingelheim España S.A., División Veterinaria, C/Prat de la Riba, s/n, Sector TuróCan Matas, 08173 Sant Cugat del Vallés, Barcelona, Spain.

<sup>2</sup> Present address: Dpto. Reproducción Animal (INIA), Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, Spain.

<sup>3</sup> Nuflon®, Intervet Schering-Plough AH.

<sup>4</sup> Draxxin®, Pfizer AH.





Luis Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico

**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XVIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palau de Congressos de Lleida los días 25 y 26 de abril de 2013 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **"TORACOSCOPIA EN TERNEROS CON SÍNDROME RESPIRATORIO BOVINO EN CONDICIONES DE CAMPO: DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA Y POSIBLES APLICACIONES PRÁCTICAS"** en el que figuran como autores *Espinosa Crespo I, Sampayo Cabrera J, Orello Frades M, Villaescusa Fernández A, Calleja Bueno L, Pérez Villalobos N.*

Y para que conste, se expide el presente certificado en Lleida, a 25 de abril de 2013.

**EL Presidente de ANEMBE**



**Luis Miguel Cebrián Yagüe**

**El Presidente del Comité Científico**



**Luis Miguel Ortega Mora**



**THORACOSCOPY: an innovative approach to Bovine Respiratory Disease in calves. Description of the technique in diseased animals**

Perez-Villalobos, N<sup>1</sup>; Espinosa-Crespo, I<sup>2</sup>; Sampayo-Cabrera, J<sup>3</sup>; Gonzalez-Martin, JV<sup>4,1</sup>; Gonzalez-Bulnes, A<sup>5</sup>; Astiz, S<sup>5</sup>\*

1-TRIALVET SL, Madrid, Spain

2-Practitioner, Madrid, Spain

3-VES SL, Madrid, Spain

4-University of Madrid, Madrid, Spain

5-INIA, Madrid, Spain

**Objectives:** Bovine respiratory disease (BRD) is one of the leading causes of losses in the beef and dairy industry; and it is a major health issue in replacement dairy calves. Most ultrasound studies used "lung consolidation" as a predictor index but with some limitations. Thoracoscopy is a minimally invasive diagnostic and therapeutic technique that allows the access to the thoracic cavity and the assessment of intrathoracic pathologies. The aim of our study was to demonstrate that thoracoscopy in diseased cattle is a safe diagnostic technique that can be performed under field conditions (experiment 1). Our second target was to describe the optimal surgical approach and equipment to execute the technique safely and with minimal painless (experiment 2).

**Methods:** We performed 24 thoracoscopies in 19 different calves over 2 experiments. In the first experiment, we conducted six thoracoscopies in three chronic BRD Holstein calves at the Faculty of Veterinary of Madrid with a rigid unit; In experiment 2, in addition a total of 18 thoracoscopies were performed in 16 Holstein or beef cross breeds with flexible endoscopy and/or industrial videoscopes at the Faculty of Veterinary of Madrid and in commercial feedlots.

**Results:** Experiment 1: The pain-score in the calves were moderate during the surgical interventions in 5/6 cases and the recovery time lapse was less than one hour in all cases. Technique repetitions were performed 22 days later in the same three animals to evidence the probability of complications and technique-derived lesions. No complications were observed in any animal. All the animals increased their body weight in the following days after the first surgery (ADG 250-728gr), the survival rate was 100% and no fibrinogen increase was detected. Experiment 2: the -visualization area of the cranial lobes depended directly of the approach. Although we only perforated one lung, we detected the risk of lung perforation was higher the more ventrally the approach incision was. We evidenced BRD lesions in 79% of animals. Nearly 70% of calves with chronic lesions presented adhesions and 77% presented acute lesions.

**Conclusions:** Our work demonstrates that thoracoscopy is an easy and secure technique to be performed on the field, on BRD affected calves and that is an interesting diagnostic and prognostic tool.

**Meningoencephalocele in a calf - case report**

Madureira, KM<sup>1</sup>; Muramoto, C<sup>1</sup>; Barbosa, VF<sup>1</sup>; Ayres, MCC<sup>1\*</sup>; Matos, PF<sup>1</sup>; Casagrande, FP<sup>1</sup>; Lima, MCC<sup>1</sup>; Ribeiro Filho, CHA<sup>1</sup>; Requião, K<sup>2</sup>; Requião, JG<sup>2</sup>

1-Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

2-Veterinary Medical Services, Salvador, Bahia, Brazil

**Objectives:** The aim of this abstract was to report a case of congenital meningoencephalocele in a Nelore breed heifer, female, two days old attended at the Veterinary Hospital of the Federal University of Bahia, Brazil, on July 25, 2013.

**Methods:** An animal born from an in vitro fertilization presented a swelling on the dorsal part of the head, dorsally to the frontal bone with no pain evidence. Physical examination revealed a swelling with 14,5 length by 9,5 height by 9,5cm width which produced unstableness, hair rarefaction and ulcerations of the skin. A fluctuant appearance was detected on palpation and no aspiration was made to avoid infection risk and fluid extravasation. Ultrasonography (Nemio, Toshiba<sup>®</sup>) revealed anechogenic fluid with small echogenic points (low density) into the swelling, in continuity to the cerebrospinal fluid (CSF) intermingled to some cerebral circumvolutions. It was found a frontal bone fontanel enlargement, from where herniate a little part of the dorsal margin of the encephalon, transpassing 0,86cm from the surface of the braincase. Through ultrasonographic examination it was not possible to determine fontanel measures, being just estimated. Computadorized tomography (Asteion, Toshiba<sup>®</sup>), with 2mm slice thickness showed that the frontal bone fontanel enlargement reached the parietal bone and had irregular oval shape (5,4cm length by 2,5cm width on caudal, 1,9cm on median, 2,2cm on cranial and 0,55cm on utmost cranial point portions. The content found inside the swelling presented soft tissue attenuation similar to the lateral ventricular CSF (between -10 and 13 Hounsfield Units - HU). The brain protrusion (between 14 and 42 HU) measured a maximum of 0,8cm height over the dorsal surface of the frontal bone.

**Results:** Meningoencephalocele diagnosis could be confirmed with the aid of imaging exams. The animal was referred for corrective surgery in August 14. Under general anesthesia with isoflurane, an elliptical skin incision was made, tissues was separated of the skin by blunt dissection and excess of liquor was drained with sterile needle and syringe. With the drainage of liquor the protruded part of the brain returned to normal position. There was dilatation and resection of excess skin and approach of external tissues to the cranial vault and subsequent sutured. After surgery daily physical exam was done and intramuscular injections of ceftiofur were given for seven days. Skin sutures were removed 14 days after surgery and during 30 days no abnormalities associated with the surgical procedure or relapse of meningoencephalocele were observed. The calf returned to her place of origin thirty days after surgery and did not express any change linked to this illness change in the last six months.

**Conclusions:** Meningoencephalocele is a rare congenital anomaly, and it should be diagnosed properly, so that the therapeutic possibilities and prognosis can be defined. Imaging tests, such as ultrasound and particularly the computed tomography, was of fundamental importance in the diagnostic, once classified the illness as meningoencephalocele and defined the diameter of the congenital defect before surgery.





Luis Miguel Cebrian Yagüe, President of the Spanish National Association of Buiatrics (A.N.E.M.B.E.) and Luis Miguel Ortega Mora, President of the Scientific Committee

## CERTIFY

That during the XIX ANEMBE International Bovine Medicine Congress – IX ECBHM Symposium held at the “Principe Felipe” Oviedo Auditorium on June 26<sup>th</sup>, 27<sup>th</sup> 2014 the work entitled “CASE REPORT. LUNG THORACOSCOPY-GUIDED BIOPSY IN A SUCKLING CALF” was presented by *Espinosa Crespo I1, Texeira Justo C2, Sacristán Álvarez S2, Ordiz Pla P3, Pérez Villalobos N2.*

Oviedo June 26<sup>th</sup> 2014

**Luis Miguel Cebrián Yagüe**  
President  
Spanish Nacional Asociation for Buiatrics



**Luis Miguel Ortega Mora**  
President of ANEMBE's  
Scientific Committee

Secretaría de ANEMBE  
Av. Fundación Principe de Asturias 7, 5º D  
33012 OVIEDO - Asturias

Tel.: +34 985 20 83 16  
Fax: +34 985 96 45 69

anembe@anembe.com  
www.anembe.com

Presidente  
Luis Miguel Cebrián  
presidente@anembe.com

Vicepresidente  
Luis Miguel Jiménez  
vicepresidente@anembe.com





Luis Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico


**CERTIFICAN:**


Que en el marco del XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos - Auditorio "Fórum Evolución" de Burgos los días 7 y 8 de mayo de 2015 se ha presentado en forma de comunicación oral el trabajo **"Estudio *postmortem* de la pleura visceral en el ganado bovino y su aplicación práctica en la biopsia pulmonar mediante toracoscopia"** en el que figuran como autores *N. Pérez Villalobos*<sup>1</sup>, *I. Espinosa Crespo*<sup>2</sup>, *J. González Fernández*<sup>5</sup>, *S. Casademunt Garre*<sup>6</sup>, *A. González-Bulnes*<sup>4</sup>, *J.V. González Martín*<sup>1,3</sup>, *S. Astiz Blanco*<sup>4</sup>

Y para que conste, se expide el presente certificado en Burgos, a 7 de mayo de 2015.

**EL Presidente de ANEMBE**

**El Presidente del Comité Científico**

  
**Luis Miguel Cebrián Yagüe**

  
**Luis Miguel Ortega Mora**

Secretaría de ANEMBE  
Av. Fundación Príncipe de Asturias 7, 5º D  
33012 OVIEDO - Asturias

Tel.: +34 985 20 83 16  
Fax: +34 985 96 45 69

anembe@anembe.com  
www.anembe.com

Presidente  
Luis Miguel Cebrián  
presidente@anembe.com

Vicepresidente  
Luis Miguel Jiménez  
vicepresidente@anembe.com





Luis Miguel Cebrián Yagüe, Presidente de la ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA (A.N.E.M.B.E.) y Luis Miguel Ortega Mora, Presidente del comité científico

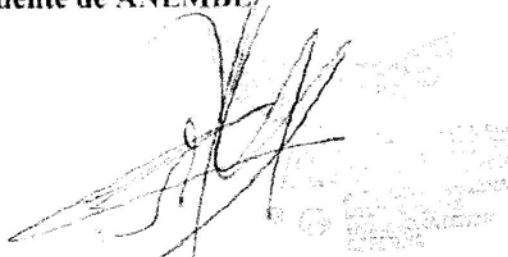
**CERTIFICAN:**

Que en el marco del XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos - Auditorio "Fórum Evolución" de Burgos los días 7 y 8 de mayo de 2015 se ha presentado en forma de póster el trabajo "**Descripción de técnica de toracoscopia en toro de lidia (*bos taurus*), a propósito de un caso clínico de pericarditis traumática**" en el que figuran como autores S. Santos-López<sup>1</sup>; I. Espinosa Crespo<sup>1</sup>; A. Fernández Novo<sup>1</sup>; N. Pérez-Villalobos<sup>2</sup>; J.A. García García<sup>3</sup>

Y para que conste, se expide el presente certificado en Oviedo, a 7 de mayo de 2015.

**EL Presidente de ANEMBE,**

**El Presidente del Comité Científico**



**Luis Miguel Cebrián Yagüe**



**Luis Miguel Ortega Mora**

SECRETARÍA DE FOMENTO

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

Madrid, 14 de mayo de 2015

El presente certificado se expide en Oviedo, a 7 de mayo de 2015.

Firmante

Luis Miguel Cebrián Yagüe

Comprobadore

Luis Miguel Ortega Mora

Este certificado se expide en Oviedo, a 7 de mayo de 2015, en el marco del XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina celebrado en el Palacio de Congresos - Auditorio "Fórum Evolución" de Burgos los días 7 y 8 de mayo de 2015.

